Über die Konstitution des Antibioticums Phomin

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

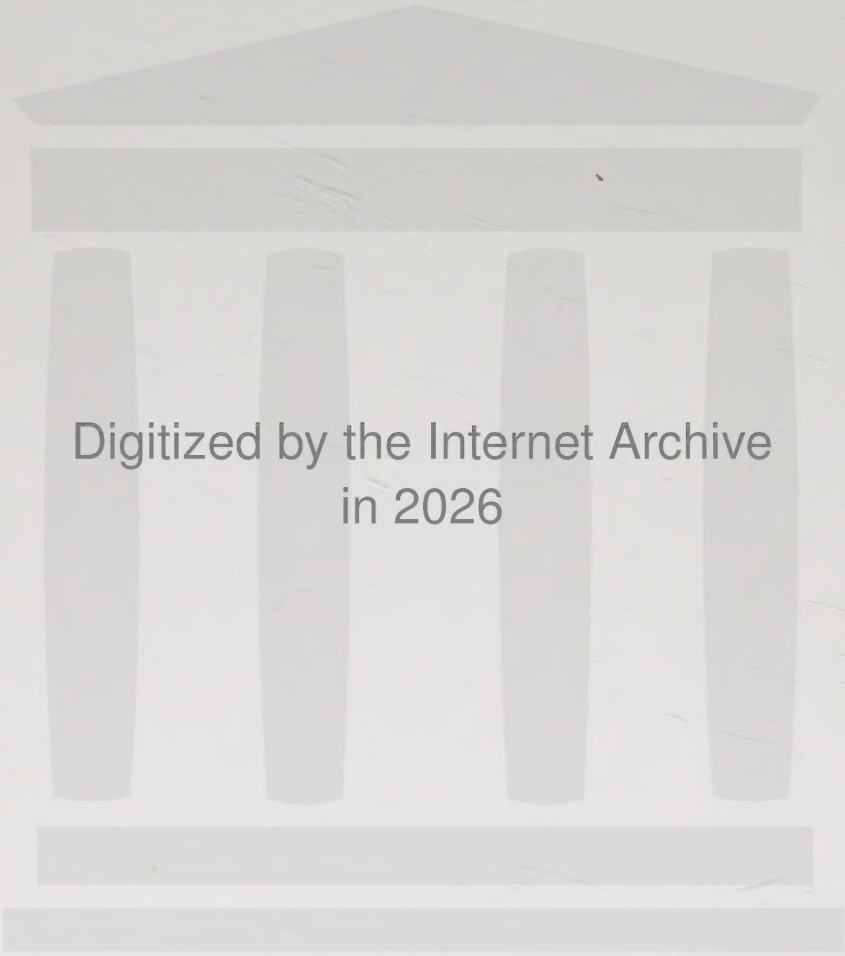
zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

WERNER ROTHWEILER
aus Basel

1966

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG
1970


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546021_0148

Über die Konstitution des Antibioticums Phomin

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

WERNER ROTHWEILER
aus Basel

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG
1970

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. CH. TAMM und Dr. C. GROB.

Basel, den 21. Juni 1966

Prof. Dr. W. HABICHT
Dekan

Herrn WERNER ROTHWEILER wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 21. Juni 1966 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 21. Juni 1966 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

«*Über die Konstitution des Antibioticums Phomin*»

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Institut für Organische Chemie der Universität Basel,
2. in der Universitätsbibliothek Basel,
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen 53,
Fasciculus quartus, 1970

Die vorliegende Arbeit wurde in den Laboratorien des Instituts für Organische Chemie der Universität Basel unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Ch. Tamm ausgeführt.

Herrn Professor Tamm gebührt mein herzlichster Dank für sein reges Interesse an dieser Arbeit sowie für seine nimmermüde Unterstützung und stete Hilfsbereitschaft.

Isolierung und Struktur der Antibiotica Phomin und 5-Dehydrophomin

Summary. From cultures of a *Phoma* species (strain S 298) (*Fungi imperfecti*) two new antibiotics, phomine (**1**) and 5-dehydrophomine (**4**) have been isolated. Phomine and 5-dehydrophomine represent a novel type of macrolide antibiotics, the large lactone ring being fused to a highly substituted octahydro-isoindole system. Both show cytostatic activity.

1. Einleitung. – Die Gattung *Phoma* [1], die zur Klasse der *Fungi imperfecti* (*Deuteromycetes*), Ordnung *Phomales*, Familie *Sphaerioidaceae* (*Phomaceae*), Subfamilie *Hyalosporae*, gehört, ist bis heute chemisch kaum untersucht worden. *Koegl et al.* [2] isolierten aus *Phoma terrestris Hansen* Phomazarin, ein Aza-anthrachinonderivat [3]. Aus dem gleichen Mikroorganismus gewannen *Wright & Schofield* [4] Cynodontin, ein 1,4,5,8-Tetrahydroxy-2-methyl-anthrachinon [5]. Schliesslich isolierten *Closse et al.* [6] aus Kulturen eines Stammes der Gattung *Phoma* (Stamm S 1186) den antibakteriell wirksamen Gentisinalkohol und aus einem anderen Stamm (S 1019) das strukturell verwandte Epoxydon. Letzteres besitzt antimitotische Aktivität.

2. Isolierung und Charakterisierung von Phomin und 5-Dehydrophomin. – Aus Kulturen einer bisher nicht identifizierten *Phoma*–Species (Stamm S 298)[1]) haben wir zwei neue Metabolite, Phomin und 5-Dehydrophomin, isoliert und ihre Struktur aufgeklärt (s. vorläufige Mitteilung von 1966 [7]). Wenig später berichteten *Aldridge et al.* [8] über Isolierung und Struktur der Cytochalasine A–D. Die beiden ersteren sind Metabolite von *Helminthosporium dematioideum*, die letzteren von *Metarrhizium anisopliae*. Auf Grund der Daten und eines direkten Vergleichs der Präparate erwiesen sich Cytochalasin A als identisch mit 5-Dehydrophomin und Cytochalasin B mit Phomin[2]). Die Strukturaufklärung durch die britische Forschergruppe erfolgte unabhängig von uns und auf anderen Wegen.

Zur Gewinnung von Phomin und 5-Dehydrophomin wurde der Stamm S 298 der *Phoma*–Species in Standkulturen bei 18–20° und pH 4,8 unter Lichtausschluss gezüchtet[3])[4]). Nach ca. 11 Tagen Inkubation wurde die Kulturbrühe mit Essigester

[1]) Die mikrobiologische Identifizierung ist bei *Phoma*-Arten ausserordentlich schwierig.

[2]) Kürzlich isolierten japanische Forscher aus *Zygosporium masonii* die zwei Antibiotica Zygosporin A und Isozygosporin A [9]. Es zeigte sich, dass Zygosporin A identisch ist mit Cytochalasin D [10] [11]. Der gleichen Verbindungsklasse gehören auch die Zygosporine D, E, F und G an [12].

[3]) Die ersten Züchtungen erfolgten in den mikrobiologischen Laboratorien der *Sandoz AG*, Basel. Wir möchten den Herren Drs. *Ch. Stoll* und *E. Härri* und ihren Mitarbeitern für die Durchführung zahlreicher Kulturansätze bestens danken.

[4]) Am Tageslicht oder bei Einwirkung von UV.-Licht wandelt sich 5-Dehydrophomin in Lösung in 3,4-*cis*-5-Dehydrophomin um. Das Licht-induzierte Gleichgewicht zwischen *trans*- und *cis*-Form liegt bei 30% *trans*- und 70% *cis*-Isomerem (s. unten).

extrahiert. Der nach Eindampfen schon mit Kristallen durchsetzte Rohextrakt ergab nach Chromatographie an Al_2O_3 (Aktivitätsstufe II) oder Kieselgel reines krist. Phomin und reines krist. 5-Dehydrophomin mit Ausbeuten von 80–120 mg bzw. 40–80 mg pro l Kulturbrühe.

Phomin kristallisiert in farblosen prismatischen Nadeln vom Smp. 218–220°; $[\alpha]_D^{25} = +83° \pm 2°$ (Methanol). 5-Dehydrophomin bildet farblose Nadeln vom Smp. 185–187°; $[\alpha]_D^{25} = +92° \pm 2°$ (Äthanol). Die thermoelektrische Molekulargewichtsbestimmung [13] versagte beim Phomin wegen zu geringer Löslichkeit; für 5-Dehydrophomin wurde das Mol.-Gewicht 487 ± 10 (in Dichlormethan) gefunden. Massenspektroskopisch[5]) fanden wir für Phomin und 5-Dehydrophomin die Molekulargewichte 479 bzw. 477, was in Verbindung mit den Elementaranalysen die Formeln $C_{29}H_{37}NO$ für Phomin und $C_{29}H_{35}NO$ für 5-Dehydrophomin ergaben. Auf Grund der im folgenden beschriebenen Untersuchungen besitzt Phomin die Strukturformel **1** und 5-Dehydrophomin die Formel **4**.

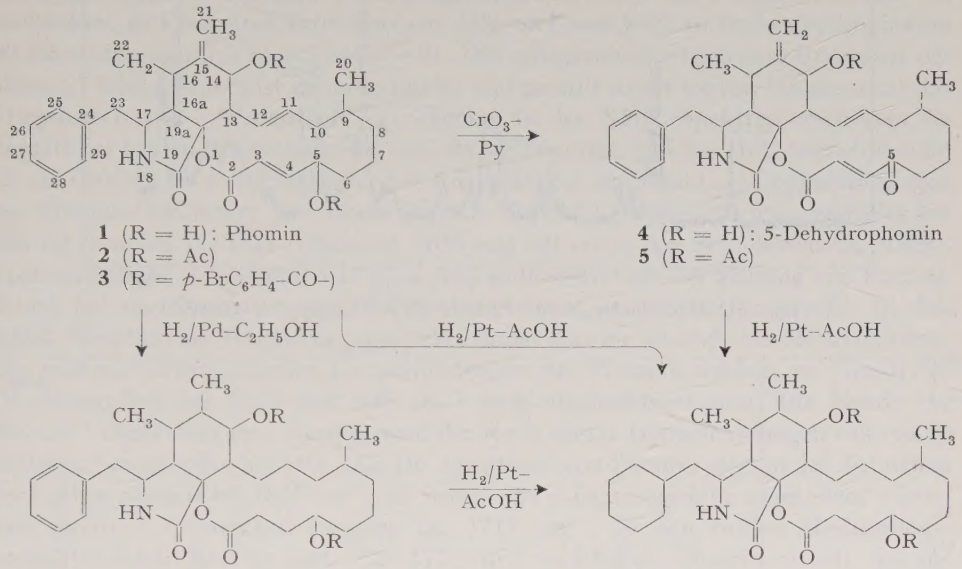
3. Funktionelle Gruppen (s. Formelschema 1). – Das UV.-Spektrum von *Phomin* (**1**) in Äthanol zeigt intensive Absorptionsmaxima bei 213 (4,42) und 219 (4,32) nm ($\log\varepsilon$), mit Inflexionen bei 258 (2,69), 264 (2,48) und 267 (2,32) nm ($\log\varepsilon$), welche auf die Anwesenheit verschiedener Doppelbindungen und eines aromatischen Rings hinweisen. Das IR.-Spektrum (Nujol und KBr) (vgl. Fig. 1) zeigt eine Hydroxyl-Schwingung bei 3510 cm^{-1} sowie Banden bei 3410, 3370 und 3220 cm^{-1}, die einer NH-Streckschwingung zugeordnet werden können (s. unten). Behandlung von Phomin mit Acetanhydrid in Pyridin bei 22° oder mit *p*-Brombenzoylchlorid in Pyridin bei 40° führt zum Di-O-acetylderivat **2** bzw. Di-O-*p*-brombenzoylderivat **3**. In den IR.-Spektren von **2** und **3** ist die NH-Schwingung bei 3410 cm^{-1} noch vorhanden, die HO-Bande aber verschwunden. Damit hätte Phomin drei aktive H-Atome, was mit dem Ergebnis der *Zerewitinoff*-Bestimmung gut übereinstimmt. Phomin besitzt somit zwei acylierbare HO-Gruppen. Sie sind sekundär, denn das NMR.-Spektrum des Dodecahydrophomins (**8**) (s. unten) in $(CD_3)_2SO$ weist zwei Dublette bei $\delta = 4{,}28$ bzw. 4,68 ppm auf, welche nach Behandlung mit D_2O verschwinden [14].

Phomin (**1**) ist neutral. Das N-Atom liegt als NH-Gruppe vor, deren Proton im NMR.-Spektrum (vgl. Fig. 2 und Tabelle) als Singulett bei $\delta = 8{,}05$ ppm erscheint und durch Deuterium leicht austauschbar ist. Die NH-Gruppe gehört einer sekundären Amidgruppe in einer γ-Lactam-Gruppierung an, denn das IR.-Spektrum von **1** zeigt eine dafür typische Amid-I-Bande bei 1690 cm^{-1} [15]. Eine Amid-II-Bande fehlt hingegen. Weitere Banden, für welche die γ-Lactam-Gruppierung verantwortlich ist, findet man bei 3410 cm^{-1} (freies NH), 3370, 3220 und 3140 cm^{-1} (NH-Streckschwingungen der assoziierten Molekel). Die Amid-III-Bande im Gebiet von 1300 bis 1250 cm^{-1} ist nicht klar zu erkennen wegen der Überlagerung mit einer C–O-Schwingung. Die Amid-IV-Bande ist einer der Absorptionen im Gebiete von 800–700 cm^{-1} zuzuordnen.

[5]) Die Massenspektren verdanken wir Herrn Dr. *W. Vetter, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, Basel. Sie wurden mit einem MS-9-Massenspektrometer der Fa. AEI aufgenommen. – Die in Figur 3 und 7 dargestellten Spektren wurden von Dr. *C. Pascual*, Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel, mit einem *Hitachi-Perkin-Elmer*-RMU-7-Massenspektrometer aufgenommen.

Das NMR.-Spektrum von Phomin lässt zwei sekundäre Methylgruppen mit den Dubletten bei $\delta = 0{,}63$ ($J = 6$ Hz) und 0,82 ppm ($J = 6$ Hz) erkennen.

Formelschema 1



1 (R = H): Phomin
2 (R = Ac)
3 (R = *p*-BrC_6H_4–CO–)

4 (R = H): 5-Dehydrophomin
5 (R = Ac)

6 (R = H) **7** (R = Ac)

8 (R = H) **9** (R = Ac)

Ac = CH_3CO; Py = Pyridin

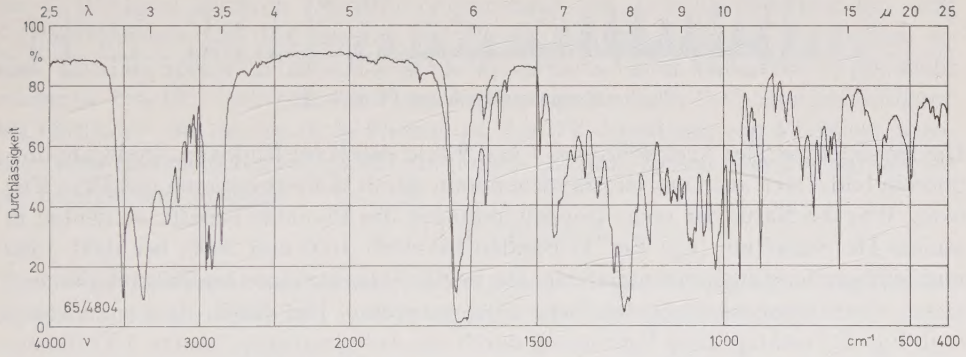


Fig. 1. *IR.-Spektrum von Phomin* (**1**) *in KBr*

Ferner enthält Phomin insgesamt 6 C=C-Doppelbindungen. Bei der katalytischen Hydrierung in Äthanol mit Pd-Kohle entsteht Hexahydrophomin (**6**). Es liefert das Di-O-acetylderivat **7**. Bei der Hydrierung in Eisessig mit Pt-Katalysator nimmt Phomin 3 Äquivalente H_2 rasch, dann 3 weitere wesentlich langsamer auf. Das gebildete Dodecahydrophomin (**8**) liefert wie **6** ein Di-O-acetylderivat **9**. Letzteres wird auch durch katalytische Hydrierung von Di-O-acetylphomin (**2**) mit Pt in Eisessig erhalten: Bei den Hydrierungen sind also keine neuen Hydroxylgruppen entstanden.

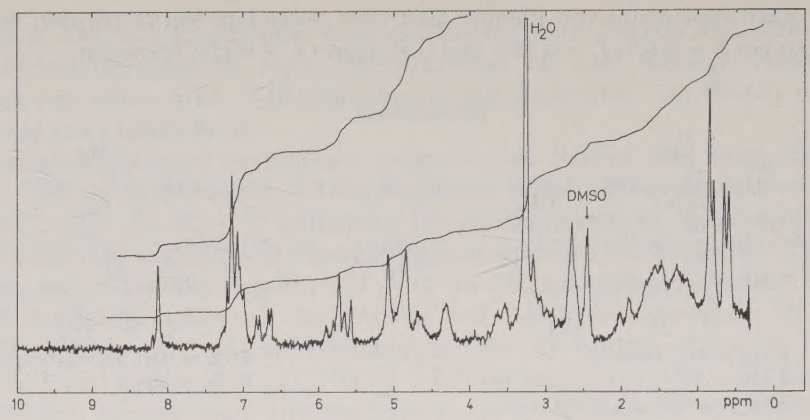


Fig. 2. *NMR.-Spektrum von Phomin* (**1**) *in* $(CD_3)_2SO$ *(100 MHz)*

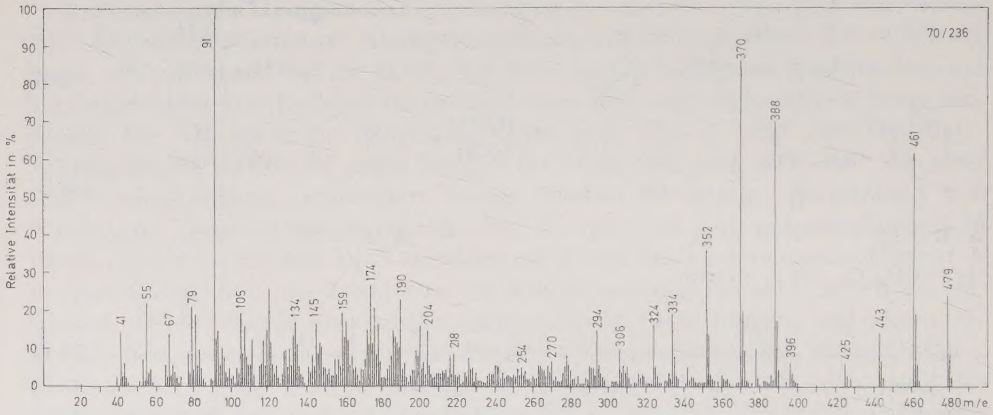
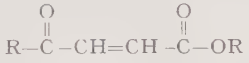


Fig. 3. *Massenspektrum von Phomin* (**1**)

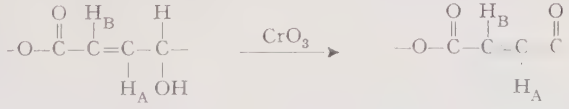
Die IR.-Spektren der Acetylderivate **7** und **9** sind damit im Einklang. Dodecahydrophomin bildet sich auch aus Hexahydrophomin durch Weiterhydrieren mit Pt in Eisessig. Was die Natur der sechs Doppelbindungen des Phomins betrifft, so deuten in seinem IR.-Spektrum (vgl. Fig. 1) Banden zwischen 3100 und 3000, bei 1600, 1580 und 1490 cm^{-1} auf einen Aromaten hin. Die beiden Schwingungen bei 760 und 690 cm^{-1} lassen einen monosubstituierten Benzolring vermuten. Das NMR.-Spektrum von **1** (vgl. Fig. 2) bestätigt diese Vermutung durch das Auftreten eines breiten 5-Protonen-Multipletts bei $\delta \simeq 7{,}14$ ppm. Dodecahydrophomin (**8**) zeigt in den IR.- und NMR.-Spektren diese Absorptionen nicht mehr; im Hexahydrophomin (**6**) hingegen ist der Benzolring noch vorhanden. Im UV.-Spektrum von **1** lassen Schultern bei 258, 264 und 267 nm eine selektive Absorption erkennen, die dem längerwelligen Teil des Benzolspektrums angehören muss. Der kürzerwellige wird von der viel intensiveren Absorption eines weiteren Chromophoren überdeckt. Dieser ist in Hexahydrophomin ausgeschaltet. Infolgedessen treten bei **6** die für den Benzolring typischen UV.-Maxima bei 242,5; 248; 254; 258,5; 264 und 268 nm rein zu Tage, wobei das intensivste bei 258,5 nm ($\log\varepsilon = 2{,}37$) liegt. Die Massenspektren zeigen nun, dass der Benzolring

einer Benzylgruppe angehört. Sowohl Phomin (**1**) (vgl. Fig. 3) (M^+ bei *m/e* 479) als auch Hexahydrophomin (**6**) (M^+ bei *m/e* 485) zeigen das Basissignal bei *m/e* 91, der dem Fragment $C_7H_7^+$ entspricht, d.h. dem Benzylium-Ion, das in die stabilere Form des Tropylium-Ions übergeht. Dementsprechend wird auch das Fragment-Ion $M-91$ beobachtet, in **1** mit einer Intensität von 37%, in **6** von 36%. In Dodecahydrophomin (**8**) fehlt hingegen das Signal bei *m/e* 91. Das entsprechende hydrierte Fragment der Masse 97 fehlt, denn es ist zu unbeständig und zerfällt sofort weiter. Hingegen ist das Fragment-Ion $M-97$ deutlich zu erkennen. In den NMR.-Spektren erscheinen die Signale der beiden Benzylprotonen an C-23 wie erwartet, z.B. bei Di-O-acetyl-phomin (**2**) als Dublett bei $\delta = 2{,}80$ ppm ($J = 6$ Hz). Damit sind drei C=C-Doppelbindungen des Phomins lokalisiert. Die vierte liegt als Vinylidengruppe vor, was einerseits aus den IR.-Banden bei 1814 (Oberton), 1638 und 901 cm^{-1}, den Singuletten des NMR.-Spektrums bei $\delta = 4{,}89$ und 5,13 ppm, und andererseits aus der Bildung von Formaldehyd bei der Ozonolyse des Di-O-acetyl-phomins (s. unten) hervorgeht. In den NMR.-Spektren der Hydrierungsprodukte findet man ein zusätzliches Methyldublett. Die zwei noch verbleibenden Doppelbindungen des Phomins müssen auf Grund der IR.-Absorption bei 1665 und 958 cm^{-1} *trans*-disubstituiert sein. Die Bande bei 988 cm^{-1} deutet auf eine Konjugation der einen dieser Doppelbindungen mit einem weiteren Chromophor hin [16]. Das IR.-Spektrum von Phomin zeigt in der Tat neben der Carbonylbande bei 1690 cm^{-1}, die bereits der γ-Lactamgruppe zugeordnet wurde, eine zweite C=O-Streckschwingung bei 1715 cm^{-1}. In den beiden Hydrierungsprodukten **6** und **8** ist sie nach 1725–1730 cm^{-1} verschoben. Phomin enthält, wie aus den weiteren Beobachtungen (s. unten) hervorgeht, eine α,β-ungesättigte Estergruppe. Die Umgebung dieser funktionellen Gruppe wurde wie folgt abgeklärt.

Oxydation von Phomin (**1**) mit dem CrO_3-Pyridin-Komplex [17][6]) führt zu einem um 2 H-Atome ärmeren Dehydrierungsprodukt, das sich als identisch mit dem *5-Dehydrophomin* (**4**), dem zweiten aus *Phoma*-Kulturen isolierten Metaboliten erwies. Das IR.-Spektrum eines Mono-O-acetylderivats **5** lässt keine HO-Gruppe mehr erkennen. Das IR.-Spektrum von **4** (vgl. Fig. 4) zeigt eine neue C=O-Streckschwingung bei 1618 cm^{-1}, die breiter als in Phomin ist. Im UV.-Spektrum von **4** fällt ein intensives Absorptionsmaximum bei 225 nm ($\log\varepsilon = 4{,}1$) auf, dessen Lage gut mit den für ein En-dion der Struktur



berechneten Werten übereinstimmt[7]). Die α,β-ungesättigte Ketongruppierung stammt offenbar aus einer allylischen Hydroxylgruppe, die dehydriert worden ist:



Das NMR.-Spektrum bestätigte diese Vermutung. In Phomin (**1**) ist das vinylische Proton H_A in ein doppeltes Dublett bei $\delta = 6{,}77$ ppm aufgespalten. Das Proton H_B

[6]) Behandlung von Phomin (**1**) mit CrO_3 in Eisessig oder mit CrO_3–H_2SO_4 in Aceton [18] führte zu komplizierten Gemischen von Produkten, die nicht getrennt werden konnten.

[7]) Man findet z.B. in Magnamycin, das diesen Chromophor enthält, ein Absorptionsmaximum bei 227 nm ($\varepsilon = 12000$) [19].

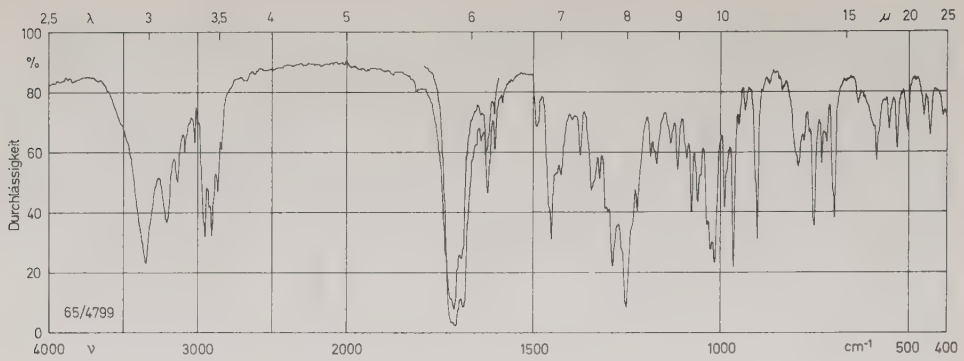


Fig. 4. *IR.-Spektrum von 5-Dehydrophomin* (**4**)

erscheint als Dublett bei 5,77 ppm (J = 16 Hz). In 5-Dehydrophomin (**4**) ist das Bild des AB-Systems der *trans*-Doppelbindung vereinfacht. Die Signale der beiden Protonen H_A und H_B erscheinen jetzt beide als Dublett bei δ = 7,42 bzw. 6,43 ppm mit J = 16 Hz (vgl. auch das NMR.-Spektrum von **5** in Fig. 5). Katalytische Hydrierung von **4** mit Pt in Eisessig lieferte Dodecahydrophomin (**8**).

4. Oxydativer Abbau von Di-O-acetyl-phomin (2) mit Ozon (s. Formelschema 2). – Die Ozonisierung wurde in Methanol bei – 70° bis – 80° mit einem 20-proz. Überschuss an Ozon (ber. auf 3 Doppelbindungen) vorgenommen, die Ozonide anschliessend mit $NaBH_4$ reduktiv geöffnet und das erhaltene Gemisch reacetyliert und an Kieselgel chromatographiert. Als erstes Produkt liess sich 1,7,8-Triacetoxy-3-methyl-octan (**11**) abtrennen. Nach Entacetylierung des verbliebenen Gemisches mit K_2CO_3 in wässerigem Methanol und Verteilung des Rohprodukts zwischen Chloroform und Wasser liess sich aus der wässerigen Phase das γ-Lactam II (**14**) erhalten, während die Chloroform-löslichen Anteile nach Chromatographie an Kieselgel das γ-Lactam I (**12**) lieferten.

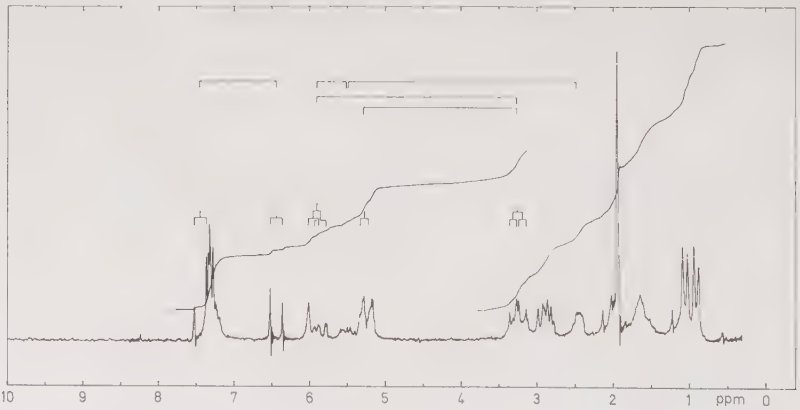


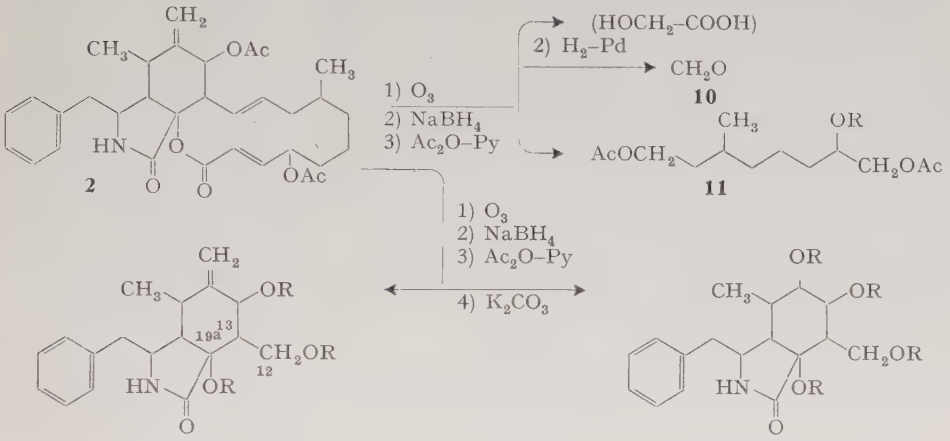
Fig. 5. *NMR.-Spektrum von Mono-O-acetyl-5-dehydrophomin* (**5**) *in* $CDCl_3$ *(100 MHz)*

Wird Di-O-acetyl-phomin (**2**) mit einem 20-proz. Unterschuss an Ozon behandelt, so erhält man ein weiteres unpolares Produkt unbekannter Struktur. Mit einem

Überschuss von ca. 140% Ozon resultiert neben dem Octanderivat **11** nur γ-Lactam II (**14**).

Die Isolierung der drei Produkte **11**, **12** und **14** gelingt nicht, wenn die Ozonide durch katalytische Hydrierung mit Pd-Kohle gespalten werden. Hingegen lässt sich unter diesen Bedingungen als viertes definiertes Abbauprodukt Formaldehyd (**10**) gewinnen (als Dimedonderivat isoliert). – Die Struktur der Ozonolysenprodukte **11**, **12** und **14** wurde wie folgt bewiesen.

Formelschema 2

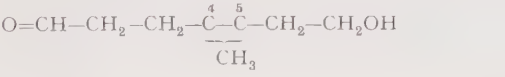


12 (R = H): γ-Lactam I
13 (R = Ac)

14 (R = H): γ-Lactam II
15 (R = Ac)

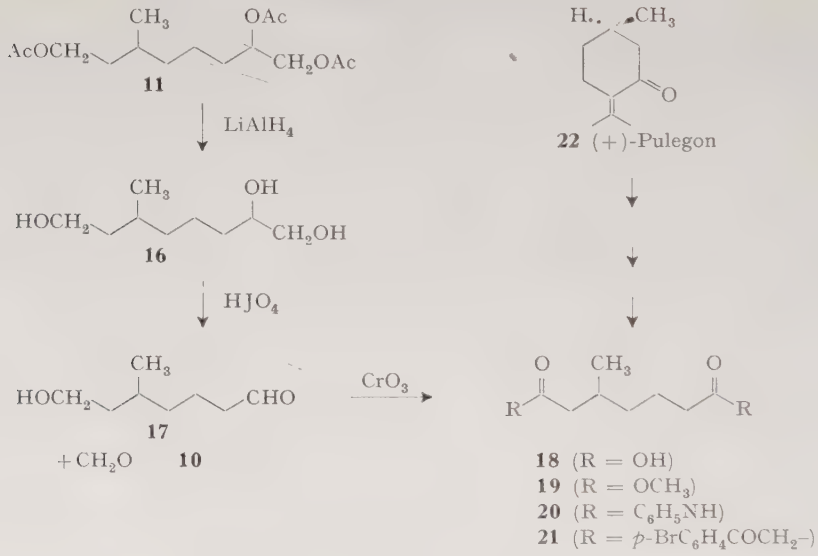
Ac = CH_3CO; Py = Pyridin

4.1. *3-Methyl-octan-1,7,8-triol* (**16** = *entacetyliertes* **11**) (s. Formelschema 3). Das ölige Produkt **11**, $C_{15}H_{26}O_6$, enthält nach dem NMR.-Spektrum neben den 3 Acetylgruppen eine sekundäre Methylgruppe (Dublett bei δ = 0,9 ppm). Ein breites Signal (δ = 5,04 ppm) ist einem α-Proton einer sekundären Acetoxygruppe und ein weiteres bei δ = 4,1 ppm den 4 α-Protonen von 2 primären Acetoxygruppen zuzuordnen [20]. Daraus folgt, dass es sich um das Triacetat eines Octantriols mit zwei primären und einer sekundären HO-Gruppe sowie einer C-Methylgruppe handelt. Die Stellung des sekundären Hydroxyls ergab sich aus der HJO_4-Spaltung des Triols **16**, das durch Entacetylierung des Triacetats **11** mit $LiAlH_4$ gewonnen wurde. Es resultierten Formaldehyd und der Hydroxyaldehyd **17**. Im NMR.-Spektrum von **17** lässt das Triplett des Aldehydprotons (δ = 9,75 ppm) auf eine benachbarte Methylengruppe schliessen, die ihrerseits als Triplett (δ = 2,43 ppm) erscheint. Infolgedessen trägt auch das nächstfolgende C-Atom zwei Protonen. Auf Grund des Tripletts der Hydroxymethylgruppe (δ = 3,67 ppm) muss dieser ebenfalls eine Methylengruppe benachbart sein. Damit bleiben für die Methylgruppe nur noch die Stellungen 4 und 5 übrig:

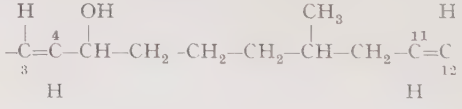


Da die Oxydation des Hydroxyaldehyds **17** mit CrO_3-H_2SO_4 in Aceton [18] die bekannte (+)-3-Methylpimelinsäure (**18**) [21][8]) ergab, muss die Methylgruppe am C-5 stehen. Wäre sie mit C-4 verknüpft, so hätte die optisch inaktive 4-Methylpimelinsäure entstehen müssen. Der Dimethylester **19**, das Dianilid **20** und der Di-*p*-bromphenacylester **21** der Abbausäure waren identisch mit den entsprechenden Derivaten von authentischer 3-Methylpimelinsäure, die wir aus (+)-Pulegon (**22**) nach Literaturangaben [22] herstellten. Da (+)-Pulegon (*p*-Menth-4(8)-en-3-on) (**22**) die (*R*)-Konfiguration besitzt [23], ist so die absolute Konfiguration der (+)-3-Methylpimelinsäure (**18**) bzw. des Hydroxyaldehyds **17** und damit auch die des Chiralitätszentrums C-9 des Phomins festgelegt.

Formelschema 3



Aus der Bildung des Triols **16** kann für Phomin die Teilstruktur A abgeleitet werden:

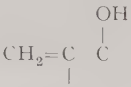


A

4.2. *Die γ-Lactame I und II.* Auf Grund von Elementaranalysen und Massenspektren besitzt das γ-Lactam I die Formel $C_{18}H_{23}O_4N$ (M^+ bei *m/e* 317) und das γ-Lactam II die Formel $C_{17}H_{23}O_5N$ (M^+ bei *m/e* 321). Sie besitzen die Strukturformeln **12** bzw. **14**. Das IR.-Spektrum von **12** zeigt noch immer die charakteristischen Banden der Vinylidengruppe (1820, 1650 und 907 cm^{-1}) des Phomins, während diese bei **14** fehlen. Dafür enthält **14** eine HO-Gruppe mehr als **12**. Infolgedessen bildet **14**

[8]) Wir fanden für **18** $[\alpha]_D^{25} = +7{,}9° \pm 1°$ (in Äthanol); *Mousseron & Jullien* [21] geben den Wert von +8,62° an

ein Tetra-O-acetylderivat **15**, **12** hingegen nur das Tri-O-acetylderivat **13**. Daraus folgt, dass die in **12** intakt gebliebene Vinylidengruppe in **14** abgespalten worden ist. Gegenüber HJO_4 ist das γ-Lactam I stabil, γ-Lactam II verbraucht jedoch 1 Mol. HJO_4. Es muss also im γ-Lactam I (**12**), und damit auch im Phomin (**1**), das der Vinylidengruppe benachbarte C-Atom eine Hydroxylgruppe tragen:



Im 100-MHz-NMR.-Spektrum (in $(CD_3)_2SO$ aufgenommen) des γ-Lactams I (**12**) ist das Singulett bei $\delta = 8{,}05$ ppm der NH-Gruppe zuzuordnen, dasjenige bei $\delta = 5{,}6$ ppm entspricht einer tertiären HO-Gruppe, das Dublett bei $\delta = 4{,}95$ ppm einer sekundären und das Triplett bei δ - 4,95 ppm dem Proton einer primären HO-Gruppe [14]. Alle vier Signale verschwinden bei Zugabe von D_2O [24]. Leicht zu erkennen sind die aromatischen Protonen bei $\delta = 7{,}22$ ppm, die beiden Vinylprotonen (Singulette bei $\delta = 4{,}83$ bzw. 5,07 ppm) sowie das Dublett der Methylgruppe bei $\delta = 0{,}62$ ppm. Das Signal bei $\delta \simeq 3{,}85$ ppm entspricht der chemischen Verschiebung der drei α-Protonen der drei Hydroxylgruppen. Von den restlichen 6 Protonen gehören zwei der benzylischen Methylengruppe an (δ=2,76 ppm), und ein weiteres muss ein α-ständiger Kopplungspartner der Methylgruppe sein. Es verbleiben nur noch 3 nicht untergebrachte H-Atome an 3 C-Atomen. Es handelt sich um drei H–C-Gruppierungen. Die Sequenz der obigen Strukturelemente ergab sich aus dem 100-MHz-NMR.-Spektrum des Tri-O-acetyl-γ-lactams I (**13**) in $CDCl_3$ (vgl. Fig. 6) und Spin-Spin-Entkopplung durch Doppelresonanz[9]).

Bei den chemischen Verschiebungen (vgl. Tabelle) ist bemerkenswert, dass die beiden α-Protonen von C-12 (das die primäre HO-Gruppe trägt) nicht äquivalent sind,

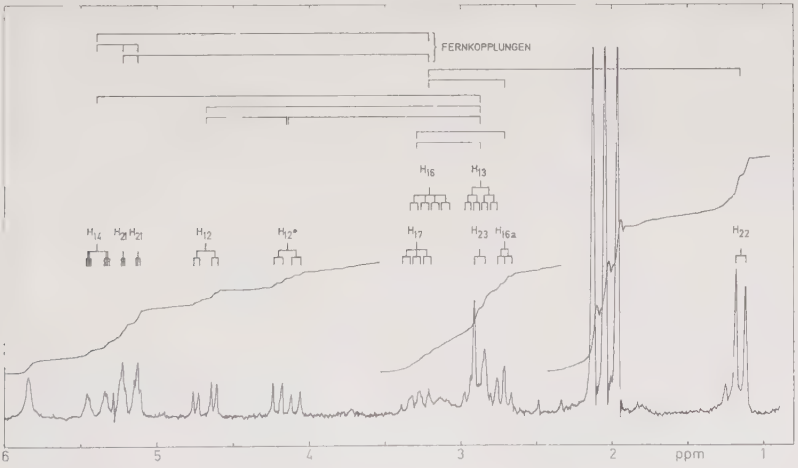
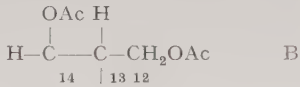


Fig. 6. *NMR.-Spektrum von Tri-O-acetyl-γ-lactam I* (**13**) *in* $CDCl_3$. *Kopplungsverhältnisse auf Grund von Doppelresonanzversuchen*

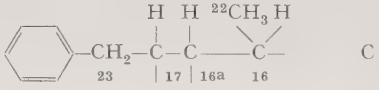
[9]) Wir möchten Herrn Dr. *U. Scheidegger, Varian AG*, Zürich, auch an dieser Stelle unseren besten Dank für die Doppelresonanzversuche und die Diskussion der Ergebnisse aussprechen.

sondern als AB-System bei $\delta = 4{,}16$ bzw. 4,68 ppm ($J = 12$ Hz) erscheinen. Es wird von einem dritten Proton an C-13 weiter aufgespalten, so dass ein ABX-System vorliegt. Die Bestrahlung des C-12-Protons (4,68 ppm, $dd/12/4$)[10]) führt zur Entkopplung des Partners an C-12 (4,16 ppm). Dabei wird das Signal $\delta = 2{,}87$ ppm als X-Teil (C-13) des Systems erkannt. Einstrahlung auf dieses Signal hebt die AX-Kopplung ($J = 4$ Hz) und die BX-Kopplung ($J = 6$ Hz) auf. Gleichzeitig wird auch das C-14-Proton (5,37 ppm, $d/11$), d.h. das α-Proton der sekundären Acetoxygruppe entkoppelt. Umgekehrt wird bei Bestrahlung des C-14-Protons das breite Signal bei δ 2,87 ppm schmaler. Diese Versuche ergaben die Sequenz B:



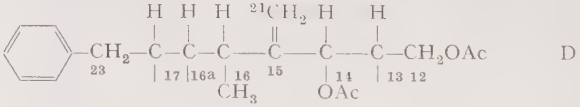
B

Eine weitere Sequenz C kann auf Grund der Bestrahlung des C-16-Protons (3,13 ppm) und des C-17-Protons (3,27 ppm) abgeleitet werden. Beim ersteren werden das Dublett der Methylgruppe 22 (1,15 ppm) und das Triplett des C-16a-Protons entkoppelt. Die beiden Methylenprotonen an C-23 (2,88 ppm) werden dabei ebenfalls beeinflusst. Die durch Einstrahlung auf das C-17-Proton (3,26 ppm) bewirkte Entkopplung des Dubletts der benzylischen Methylenprotonen an C-23 und das Triplett der C-16a-Protonen sind damit im Einklang. Damit ist die Sequenz C sichergestellt:



C

Die zusätzlich auftretenden Fernkopplungen zwischen den C-14-Protonen und C-16-Protonen einerseits und zwischen den beiden Vinylidenprotonen andererseits, die als Triplette bei $\delta = 5{,}12$ bzw. 5,22 ppm ($J = 1{,}5$ Hz) erscheinen, ermöglichen die Verknüpfung der beiden Sequenzen B und C. Die Aufspaltung in diese Triplette wird durch allylische Fernkopplung verursacht, denn sie vereinfachen sich sowohl nach Bestrahlung des C-14-Protons als auch des C-16-Protons. Dies bedeutet, dass C-14 und C-16 die Nachbarn der Vinylidengruppe sind. Eine Fernkopplung zwischen den Protonen an C-14 und C-16 ist möglich, wenn das Bindungssystem H–C(14)–C(15)–C(16)–H eine W-förmige Konformation einnimmt [25]. Die Zusammenfassung dieser Ergebnisse ergibt die Sequenz D:



D

Die Signale der Protonen an C-13, C-16, C-16a, C-17 und C-23 im NMR.-Spektrum des Tri-O-acetyl-γ-lactams I (**13**) überlappen zum Teil sehr stark. Eine Trennung wurde durch Aufnahme der Spektren in verschiedenen Lösungsmitteln ($CDCl_3$, C_6D_6, $(CD_3)_2SO$, Pyridin-d_5) erreicht. Am besten bewährte sich dabei Pyridin-d_5, in dem die chemischen Verschiebungen aller Signale gerade genügend voneinander ver-

[10]) In Klammern ist das bestrahlte Signal angegeben, wobei s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, und die Zahlen zwischen den Schrägstrichen die Kopplungskonstanten in Hz bedeuten

schieden sind, so dass eine klare Trennung zustande kommt. Dadurch erfahren die auf Grund der Doppelresonanzversuche vorgenommenen Zuordnungen eine weitere Bestätigung.

Die Verknüpfung des Stickstoffatoms der Amidgruppe mit dem C-Atom 17, das die Benzylgruppe trägt, folgt aus den Daten der Massenspektren. Während das Basissignal in Phomin (**1**) das Benzylium- bzw. Tropylium-Ion (*m/e* 91) ist, wird dieses im sekundären Amin **24** (vgl. Fig. 7) (s. unten) durch das Fragment-Ion $M-91$ (*m/e* 380) geliefert. Die Intensität dieses Ions beträgt bei Phomin lediglich 37% des Basissignals, umgekehrt ist das Fragment-Ion *m/e* 91 im Amin **24** nur zu 40% vorhanden. In Phomin herrscht die sog. Typ-A_4-Fragmentierung, im Amin die Typ-B-Fragmentierung vor (Nomenklatur nach *Biemann* [26]).

Die durch die Reduktion der Amidgruppierung des Phomins bedingte Stabilisierung des Fragment-Ions $M-91$ ist nur möglich, wenn die Benzylgruppe an einem C-Atom haftet, das sich in Nachbarstellung zum Stickstoff befindet[11]). Nachdem die Verknüpfung der –NH–CO-Gruppierung gesichert ist, ist nur noch die HO–C-Gruppierung in die erweiterte Sequenz D einzufügen. Dies kann nur an C-13, C-16a und am Carbonylende der Amidgruppen geschehen. Daraus ergibt sich für das γ-Lactam I die Struktur **12** und für das γ-Lactam II die Formel **14**. Das NMR.-Spektrum von Tetra-O-acetyl-γ-lactam II (**15**) (vgl. Fig. 8) bestätigt diese Struktur. Gegenüber

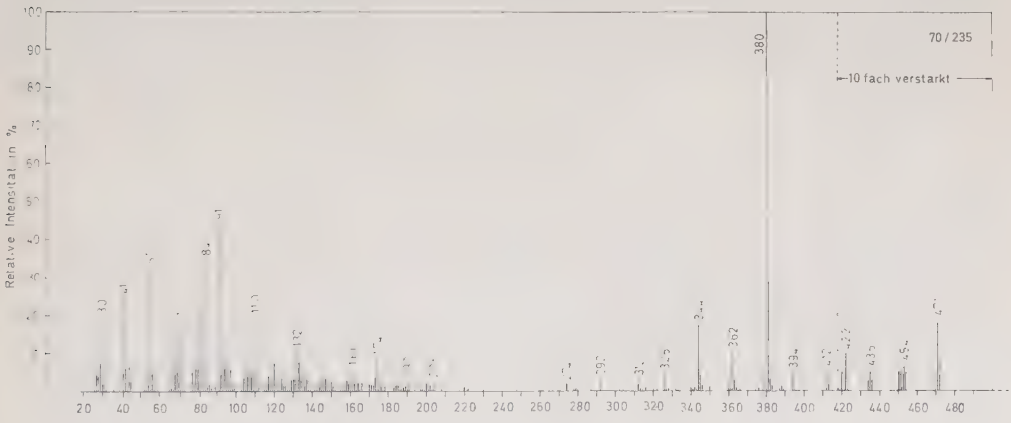


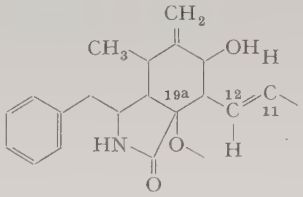
Fig. 7. *Massenspektrum von Amin* **24**[5])

Tri-O-acetyl-γ-lactam I (**13**) zeigt es die folgenden signifikanten Veränderungen: Bei $\delta = 5{,}36$ ppm erscheint als neues Signal das als Triplett getarnte doppelte Dublett des C-15-Protons. Durch dieses zusätzliche Proton erfahren die beiden benachbarten C-14- und C-16-Protonen eine weitere Aufspaltung ($J = 6$ Hz) (doppeltes Dublett bei $\delta = 5{,}01$ ppm für das C-14-Proton).

4.3. *Struktur von Phomin und 5-Dehydrophomin.* Die primäre und die tertiäre Hydroxylgruppe (an C-12 bzw. C-19a) der γ-Lactame I und II fehlen im Phomin (**1**).

[11]) Das freie Elektronenpaar des Heteroatoms ermöglicht die Spaltung einer benachbarten C–C-Bindung durch Stabilisierung des entstehenden Kations. Die Elektronen-Donor-Wirkung des Stickstoffs wird durch die Reduktion der Carbonylgruppe des Phomins enorm gesteigert.

Sie sind erst durch die Ozonolyse der beiden *trans*-disubstituierten olefinischen Doppelbindungen des Di-O-acetyl-phomins (**2**) erzeugt worden. Daraus ergibt sich die Teilstruktur E für Phomin, welche mit der früher abgeleiteten Teilstruktur A zu verknüpfen ist:



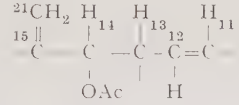
E

Fig. 8. *NMR.-Spektrum von Tetra-O-acetyl-γ-lactam-II* (**15**) *in* $CDCl_3$ *(100 MHz); Kopplungsverhältnisse*

Die Entscheidung zwischen den beiden Möglichkeiten liess sich mit Hilfe des NMR.-Spektrums des Di-O-acetyl-phomins (**2**) und Spin-Spin-Entkopplungsversuchen treffen (vgl. Fig. 9). Sie bestätigten zunächst die Sequenz der C-Atome Nr. 3, 4 und 5, d.h. die Allylacetat-Gruppierung, indem Bestrahlung des C-4-Protons (6,91 ppm, *dd*/16/5) das C-3-Proton als Partner mit der grossen Kopplungskonstante ($J = 16$ Hz) bei $\delta = 5{,}78$ ppm aufdeckt, während das Signal des anderen mit $J = 5$ Hz (C-5-Proton) im Signalhaufen bei ca. $\delta = 5{,}4$ ppm zu suchen ist. Umgekehrt bringt die Einstrahlung bei 5,4 ppm die beiden Kopplungen $J_{3,4}$ und $J_{4,5}$ zum Verschwinden. Gleichzeitig verändert sich auch das dem Dublett des C-3-Protons überlagerte Quartett des C-12-Protons (bei $\delta = 5{,}85$ ppm). Einstrahlung bei 5,65 ppm führt einerseits zur Entkopplung der Partner des C-3-Protons und andererseits zur Entkopplung des C-13-Protons (3,56 ppm, *dd*/9/11) zu einem einfachen Dublett. Daraus folgt, dass das C-13-Proton der allylische Partner des C-12-Protons und das C-11-Proton dessen olefinischer Partner ist. Bestrahlung des C-13-Protons bestätigt diesen Zusammenhang, bewirkt aber gleichzeitig Vereinfachung des den C-21-Vinyliden-Protonen überlagerten Dubletts mit Fernkopplung des C-14-Protons zu einem Singulett. Dieses ist

Fig. 9. *NMR.-Spektrum von Di-O-acetyl-phomin* (**2**) *in* $CDCl_3$ (*100 MHz*). *Kopplungsverhältnisse auf Grund von Doppelresonanzversuchen*

das andere zur zweiten Acetoxygruppe α-ständige Proton. Die Fernkopplung und die Beobachtung, dass das Signal des C-14-Protons bei $\delta = 5{,}29$ ppm nach Hydrierung der Vinylidengruppe nach 4,70 ppm verschoben wird und dann als doppeltes Dublett erscheint, bedeutet, dass C-14 der C-15/21-Vinylidengruppe benachbart ist. Daraus ergibt sich die Sequenz F:



F

Damit ist die eine Verknüpfung zwischen den Teilstrukturen A und E gesichert. Es sind jetzt nur 1 C-Atom und 1 O-Atom einzufügen, um der Summenformel $C_{29}H_{37}NO_5$ zu genügen. Sie bilden eine Carbonylfunktion, die mit der tertiären 19a-Hydroxylgruppe verknüpft ist, so dass in Phomin ein 14-gliedriger Ring mit einer α,β-ungesättigten Estergruppierung entsprechend der Strukturformel **1** vorliegt. Experimentell nicht nachgewiesen wurde die nach der Ozonolyse und Hydrolyse des Di-O-acetyl-phomins (**2**) zu erwartende Glykolsäure.

5. Reduktionen mit $LiAlH_4$ (s. Formelschema 4). – Die Reduktionen von Phomin (**1**) und Di-O-acetyl-dodecahydrophomin (**9**) mit $LiAlH_4$ liefern weitere Beweise für Lacton- und Lactam-Funktionen.

Behandlung von **1** mit 1,5 Mol. $LiAlH_4$ in Tetrahydrofuran bei 40–50° während 1,5 Std. ergibt das um 2 H-Atome reichere γ-Lacton **22**. Das Massenspektrum (M^+ bei m/e 481) bestätigt die Formel $C_{29}H_{39}O_5N$. Das IR.-Spektrum zeigt neben der unveränderten Lactamgruppe eine neue C=O-Streckschwingung bei 1764 cm^{-1}. Die positive Reaktion mit Hydroxamsäure-$FeCl_3$ [27] bestätigt die γ-Lacton-Gruppe. Mit Acetanhydrid und Pyridin ergibt **22** ein Mono-O-acetylderivat **23**, das im IR.-Spektrum noch eine freie HO-Gruppe zeigt. Die Bildung des γ-Lactons **22** lässt sich erklären, wenn zuerst eine Hydrierung der Doppelbindung der α,β-ungesättigten Estergruppe

Zuordnung der H-Atome in den NMR.-Spektren

Substanz	Lösungsmittel	Fig.	C-3	C-4	C-5	C-11	C-12	C-12*	C-13	C-14	C-15
1	$(CD_3)_2SO$	2	5,77 *d* 16	6,77 *dd* 16/5	~5 *m*	~5 *m*	5,82 *dd* 16/9		3,20 *m*	3,63 *d** 11	–
2	$CDCl_3$	9	5,78 *d** 16	6,91 *dd* 16/5	~5,4 *m**	~5,4 *m*	5,85 *dd** 16/9		3,56 *dd* 9/11	5,29 *d** 11	–
	C_6D_6		5,94 *d** 16	6,97 *dd* 16/5	~5,35 *m*	~5,35 *m*	6,41 *dd** 16/9		3,89 *dd* 9/11	5,71 *d* 11	–
4	$CDCl_3$		6,43 *d* 16	7,42 *d* 16	–	~5,8 *m*	~6,0 *m*			3,9 *d** 11	–
5	$CDCl_3$	5	6,44 *d* 16	7,44 *d* 16	–	5,48 *m*	5,91 *dd** 16/9		3,26 *dd* 9/11	5,27 *d** 11	–
12	$(CD_3)_2SO$		–	–	–	–	3,88 *m*		1,93 *dt* 5/10	3,83 *m*	–
	C_5D_5N		–	–	–	–	4,86 *d* 5		2,79 *dt* 5/10	4,73 *d* 10	–
13	$CDCl_3$	6	–	–	–	–	4,68 *dd* 12/4	4,16 *dd* 12/6	2,87 *ddd* 4/6/11	5,37 *d** 11	–
	C_6D_6		–	–	–	–	5,22 *dd* 11/4	4,54 *dd* 11/6	3,13 *ddd* 4/6/11	5,61 *d** 11	–
15	$CDCl_3$	8	–	–	–	–	4,52 *dd* 12/4	4,24 *dd* 12/5	2,54 *ddd* 4/5/12	5,01 *dd* 12/6	5,36 *dd* 6/6
22	$CDCl_3$				4,47 *tt* 6/6	5,66 *dt* 7/16	5,48 *dd* 16/7		2,71 *dd* 7/9	4,05 *d** 9	–
23	$CDCl_3$				4,46 *m*	~5,56 *m*	~5,56 *m*			5,26 *d* 9	

[12]) Die chemischen Verschiebungen (δ-Werte) sind in ppm angegeben. Es bedeuten: *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *q* = Quadruplett, *dd* = doppeltes Dublett, *dt* = doppeltes Triplett, *dq* = doppeltes Quadruplett, *ddd* = dreifaches Dublett, *tt* = dreifaches Triplett, *m* = Multiplett, *b* = breit. Mit einem * werden Signale bezeichnet, die zusätzlich noch eine Fernkopplung aufweisen. Die unteren Zahlen entsprechen den Kopplungskonstanten in der Reihenfolge der Kopplungspartner.

(ausgewählte Daten)[12])

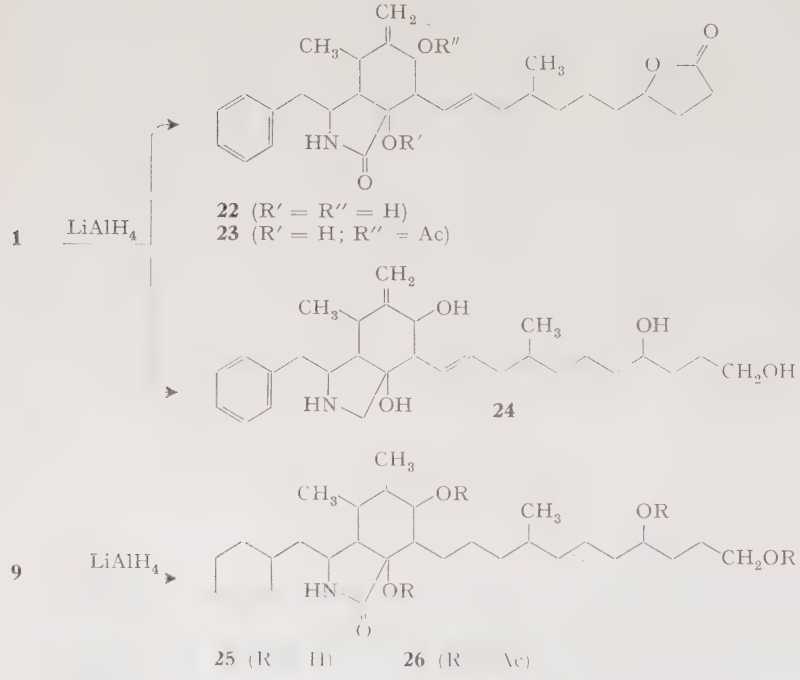
C-16	C-16a	C-17	C-20	C-21	C-21*	C-22	C-23	C-25 -29	N–H	O-H	O–H	O–H
		4,35 *m*	0,63 *d* 6,5	5,12 *s*	4,89 *s*	0,83 *d* 6,5	2,70 *b*	7,14 *m*	8,17 *s*	4,9 *b*	4,7 *b*	–
3,34 *m*	2,80 *d* 6	3,34 *m*	0,87 *d* 6,5	5,27 *s**	5,12 *s**	1,01 *d* 6,5	2,80 *d* 6	7,25 *m*	6,16 *s*	–	–	–
3,36 *m*	2,93 *m*	3,16 *m*	0,72 *d* 6,5	5,46 *s*	5,00 *s*	0,64 *d* 6,5	2,64 *d* 6	7,12 *m*	7,48 *s*	–	–	–
			0,97 *d* 6,5	5,45 *s**	5,20 *s**	1,11 *d* 6,5		7,27 *m*	5,75 *s*	2,08 *s*	–	–
			0,91 *d* 6,5	5,29 *s**	5,17 *s**	1,06 *d* 6,5		7,26 *m*	6,01 *s*	–	–	–
2,82 *m*	2,10 *dd* 6/3,5	3,15 *dt* 3,5/7	–	5,07 *s*	4,83 *s*	0,62 *d* 6,5	2,76 *d* 7	7,22 *m*	8,05 *s*	5,60 *s*	4,95 *d* 6	4,95 *t* 6
3,25 *dq* 5,5/6,5	2,60 *dd* 5,5/4	3,61 *dt* 4/7	–	5,46 *s*	5,07 *s*	0,95 *d* 6,5	2,88 *d* 7	7,17 *m*	8,96 *s*	6,64 *b*	6,39 *b*	4,84 *b*
3,13 *dq** 5/6,5	2,73 *dd* 5/5	3,27 *dt* 5/7	–	5,22 *s**	5,12 *s**	1,15 *d* 6,5	2,88 *d* 7	7,22 *m*	5,84 *s*	–	–	–
				5,28 *s**	4,89 *s**	0,67 *d* 6,5		7,1 *m*	6,49 *s*	–	–	–
2,61 *ddq* 6/5/6,5	2,59 *dd* 5/9	3,95 *dt* 9/5	–	–	–	1,03 *d* 6,5	2,90	7,28 *m*	5,92 *s*	–	–	–
			0,80 *d* 6,5	5,27 *s**	5,11 *s**	1,22 *d* 6,5		7,23 *m*	5,57 *s*	(3,56) *s*		–
		3,32 *m*	0,81 *d* 6,5	5,22 *s**	5,08 *s*	1,19 *d* 6,5		7,23 *m*	5,73 *s*	(3,06)	–	

Die Bezifferung der einzelnen Verbindungen bei der Diskussion der NMR.-Spektren erhebt keinen Anspruch auf Korrektheit bezüglich der IUPAC-Regeln. Wir danken Herrn PD. Dr. *A. Georg*, Genève, für seine Ratschläge in den Nomenklaturfragen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit und der besseren Verständlichkeit wurden Reaktions- und Abbauprodukte gleich numeriert wie die Ausgangssubstanz.

(1,2-Addition, vgl. [28]), die durch die allylische HO-Gruppe unterstützt wird [29], angenommen wird. Der dadurch beweglicher gewordene 14-gliedrige Ring erfährt bei anschliessender Aufarbeitung (saures Milieu) eine Umesterung. Das NMR.-Spektrum (vgl. Tab.) ist mit der postulierten Struktur im Einklang. So sind das Triplett des C-11-Protons (J = 16 bzw. 7 Hz), das doppelte Dublett der C-12- und C-13-Protonen und das Dublett des C-14-Protons mit Fern-Kopplung zu erkennen. Das C-5-Proton des Lactonrings verursacht bei δ = 4,47 ppm ein dreifaches Triplett mit $J_{4,5}$ und $J_{5,6}$ = 6 Hz. Das gleiche γ-Lacton haben auch *Aldridge et al.* [8] erhalten durch Reduktion des Phomins mit $NaBH_4$, anschliessende Hydrolyse mit NaOH und Behandlung mit Dicyclohexyl-carbodiimid. Behandlung von Phomin mit einem Überschuss an $LiAlH_4$ in siedendem Tetrahydrofuran während 22 Std. liefert, allerdings in schlechter Ausbeute, das Amin **24**. Es reagiert basisch und gibt mit dem Nitroprussid-Natrium/Acetaldehyd-Reagens die für sekundäre Amine spezifische Reaktion. Im IR.-Spektrum sind keine C=O-Frequenzen vorhanden. Das Massenspektrum zeigt das M^+-Signal bei m/e 471. Die signifikanten Signale der Masse M – 91 und 91 sind bereits diskutiert worden. Das Signal bei m/e 412 entspricht dem Fragment-Ion M – 59; es kann durch Abspaltung des Restes C-1 bis C-3 erklärt werden.

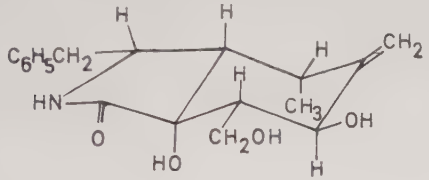
Wird Di-O-acetyl-dodecahydrophomin (**9**) mit $LiAlH_4$ in Äther unter Rückfluss gekocht, so tritt selektive Reduktion der Esterbindung ein, unter Bildung des Tetrahydroxy-lactams **25**. Es liefert das Tetra-O-acetylderivat **26**. Die Daten des NMR.-Spektrums sind mit dieser Struktur im Einklang.

Formelschema 4

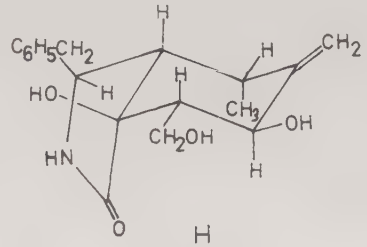


Ac = CH_3–CO

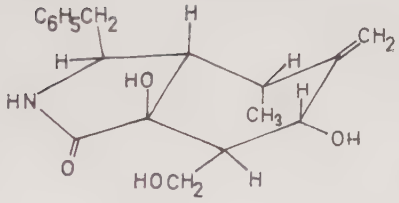
6. Stereochemie. – Das Octahydro-isoindol-System des Phomins (**1**), das *cis*- oder *trans*-ständig verknüpft sein kann, enthält insgesamt 6 Chiralitätszentren. Damit sind 64 optische Isomere bzw. 32 Diastereoisomere (racemische Paare) möglich. Da die Ringe verschiedene Konformationen (Sessel, inverser Sessel, Wanne, inverse Wanne) einnehmen können, sind theoretisch total 128 räumliche Anordnungen möglich. Auf Grund der NMR.-Daten des γ-Lactams I (**12**) und dessen Tri-O-acetylderivats **13**, insbesondere durch qualitative Anwendung der von *Karplus* [30] gefundenen Beziehung zwischen den Kopplungskonstanten und dem Torsionswinkel zweier vicinaler Protonen, können 28 der 32 möglichen Diastereoisomeren eindeutig ausgeschlossen werden. Unter Berücksichtigung der Kopplungskonstanten $J_{13,14}$, $J_{16,16a}$, $J_{16a,17}$ und der Fernkopplung zwischen den C-14- und C-16-Protonen erscheint für jedes dieser 4 Isomeren nur je eine einzige Konformation wahrscheinlich zu sein. Sie werden anhand des γ-Lactams I durch die 4 Raumformeln G-K wiedergegeben. In G sind die Ringe *trans*- und in H-K *cis*-verknüpft. Nach den *Dreiding*-Modellen ist jedoch die *trans*-Anordnung G sehr gespannt.



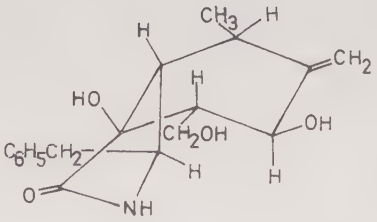
G



H

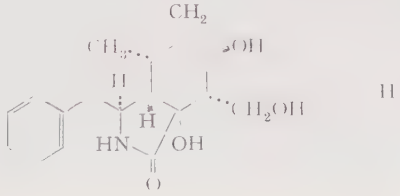


I



K

In Phomin (**1**) und 5-Dehydrophomin (**4**) sind die räumlichen Verhältnisse gleich. Eine Entscheidung zwischen den Raumformeln G-K ist mit Hilfe der NMR.-Spektroskopie nicht möglich. Hingegen hat die *Röntgen*-Strukturanalyse eines Phominderivats gezeigt, dass die Raumformel H zutrifft [31]: Die auf Grund der NMR.-Daten vorge-



H

nommene Ausscheidung der 28 Stereoisomeren ist zu Recht erfolgt. Die Interpretation aller NMR.-Spektren ist damit ebenfalls gesichert. Die absolute Konfiguration des Phomins (**1**) und des 5-Dehydrophomins (**4**) folgt aus der Verknüpfung mit *R*-(+)-Pulegon (s. oben). Im Einklang mit diesen Resultaten sind auch die Ergebnisse der partiellen Racemat-Spaltung von Phomin und 5-Dehydrophomin nach der Methode von *Horeau* [32]. Umsetzung von 5-Dehydrophomin, das nur eine einzige HO-Gruppe an C-14 besitzt, mit (+)-α-Phenylbuttersäureanhydrid ergab einen Grad der Veresterung von 87% und eine optische Ausbeute von 16% (+). Phomin lieferte bei einem Grad der Veresterung von 110% eine optische Ausbeute von 24% (+). Die Veresterung der 5-Hydroxygruppe beeinflusst die Racematspaltung nicht, da die Raumerfüllung der Nachbargruppen zu wenig verschieden ist. Relevant ist infolgedessen nur das 14-Hydroxyl. Unter Voraussetzung, dass der 13-ständige Substituent grösser als der 15-ständige ist, besitzt die 14-Hydroxy-Gruppe die β-Konfiguration.

Phomin (**1**) und 5-Dehydrophomin (**4**) sind die ersten Vertreter eines neuartigen Typs von Makrolid-Antibiotica, indem der 14-gliedrige Lactonring an ein hochsubstituiertes Octahydroisoindol-System angegliedert ist.

7. Biologische Aktivität. – Phomin (**1**) und 5-Dehydrophomin (**4**) zeigen cytostatische Aktivität *in vitro*. Die Vermehrung von *Hela*-Zellen *in vitro* wird durch Konzentration von 3–10 μg/ml vollständig verhindert. Ferner wird die Wanderung von Hühner-Leukozyten durch Phomin in einer Konzentration von 2,5 μg/ml zu 80% gehemmt[13]).

Wir danken der *Sandoz AG*, Basel, und dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* (Projekte Nr. 2627, 3524 und 3945) für die gewährte Unterstützung.

Experimenteller Teil

1. Allgemeines. – Alle *Schmelzpunkte* wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind nicht korrigiert; Fehlergrenze etwa ± 3°. *Substanzproben* zur Messung der UV.-, IR.-, NMR.- und Massenspektren wurden mindestens 1 Std. bei 0,02 Torr getrocknet. Substanzproben für Elementaranalysen wurden bis zu konstantem Smp. umkristallisiert und bei den angegebenen Bedingungen getrocknet. Flüssige Proben wurden für die Elementaranalyse im Kugelrohr destilliert. Amorphe Substanzen wurden nur analysiert, wenn sie dünnschichtchromatographisch einheitlich waren. Die *Mikroanalysen* verdanken wir den Mikroanalytischen Laboratorien der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) und der *Sandoz AG*, Basel (Leitung Dr. *W. Schoeniger*)

Die *60-MHz-NMR.-Spektren* wurden mit einem *Varian*-A-60-Spektrometer bei *Sandoz AG*, Basel (Dr. *P. Niklaus*) und im Spektrallabor des Instituts (*K. Aegerter*) aufgenommen. Die *100-MHz-NMR.-Spektren* wurden von Herrn Dr. *U. Scheidegger* der Fa. *Varian AG*, Zürich, mit einem *Varian*-HR-100-Spektrometer gemessen. Die *IR.-Spektren* wurden mit einem *Perkin-Elmer*-Gitterspektrophotometer, Modell 125, und einem *Beckman*-IR-8 aufgenommen; für die Aufnahme der *UV.-Spektren* diente ein *Beckman*-D.K. 2-Spektrophotometer.

Die *Massenspektren* wurden bei *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, Basel (Dr. *W. Vetter*) mit einem MS-9-Massenspektrometer der Fa. *AEI* aufgenommen.

Zur *Säulenchromatographie* nach der Durchlaufmethode [33] diente neutrales Al_2O_3 der Aktivitätsstufen I und II der Firma *M. Woelm*, Eschwege, oder «Kieselgel 0,05–0,20 mm für die Chromatographie» der Firma *E. Merck AG*, Darmstadt. Es wurde auch die Säulenchromatographie nach *Duncan* [34] angewendet, wofür ebenfalls Kieselgel der obigen Qualität verwendet wurde. Für die *Dünnschichtchromatographie* (DC.) nach *Stahl* [35] wurde «Kieselgel G nach *Stahl* für Dünnschichtchromatographie» von *Merck* verwendet. Als Fliessmittel diente meist Chloroform, das 0,5 bis 20% Methanol enthielt. Wenn kein spezifisches Sprühreagens zur Verfügung stand, wurden die Dünnschichtchromatogramme in einer Kammer mit Joddämpfen entwickelt.

[13]) Wir danken Herrn Dr. *H. Stähelin*, *Sandoz AG*, Basel, bestens für diese Zellkulturversuche.

2. Züchtung und Isolierung von Phomin (1) und 5-Dehydrophomin (4). – Die Züchtung von *Phoma*, Stamm S 298, erfolgte in Standkulturen von je 100 ml. 30 Liter Nährlösung (pro Liter: 20 g Glucose, 2 g Pepton, 2 g Hefeextrakt, 2 g Malzextrakt (*Schweiz. Ferment AG*, Basel), 2 g KH_2PO_4, 2 g $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ und entmineralisiertes Wasser) wurden in 300 *Erlenmeyer*-Kolben verteilt und mit Sporen vom Stamm S 298 angeimpft. Nach 11 Tagen Inkubation bei 18° wurde die Kulturbrühe vom Mycel abfiltriert und das Mycel noch dreimal mit je 1,5 l Wasser gewaschen[14]). Je 10 l Kulturfiltrat wurden 4mal mit je 8 l Essigester ausgerührt und der Essigester 3mal mit je 1,5 l Waschwasser des Mycels gewaschen. Der Extrakt wurde über $CaCl_2$ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingeengt. So wurden normalerweise 4–6 g dunkelbrauner Rohextrakt erhalten, der nach einigen Tagen Ansätze zur Kristallisation zeigte. Der Rohextrakt wurde in Methylenchlorid-Methanol-(9:1) gelöst und über die 2–3 fache Menge Al_2O_3 (Aktivitätsstufe II) filtriert. Aus diesem grob gereinigten Rohextrakt konnte durch fraktionierte Kristallisation aus Aceton-Äther der grösste Teil des Phomins gewonnen werden. Die Mutterlaugenrückstände wurden an der 40-fachen Menge Al_2O_3 (Aktivitätsstufe II) oder an der 100-fachen Menge Kieselgel chromatographiert. Das Phomin konnte bei Verwendung von Al_2O_3 (Aktivitätsstufe II) mit Methylenchlorid-Methanol-(998:2), bei Verwendung von Kieselgel mit Methylenchlorid-Methanol-(98:2) eluiert werden. Das wenig schneller laufende 5-Dehydrophomin (**4**) wurde mit Methylenchlorid bzw. Methylenchlorid-Methanol-(99:1) eluiert.

Die Ausbeute an Phomin (**1**) betrug 80–120 mg/l Kulturbrühe und an 5-Dehydrophomin (**4**) 40–80 mg/l Kulturbrühe.

3. Phomin (1). – Aus Aceton-Äther, Chloroform-Äther oder Chloroform-Petroläther kristallisiert Phomin in kleinen, farblosen, prismatischen Nadeln vom Smp. 218–220°. $[\alpha]_D^{25} = +83° \pm 2°$ ($c = 1{,}039$ in Methanol), $= +82° \pm 2°$ ($c = 0{,}607$ in Methanol). IR.-Spektrum (Nujol und KBr, vgl. Fig. 1) u.a. Banden bei 3510 (OH), 3410, 3370 und 3220 (NH); 3090, 3060 und 3025 (=CH– und $=CH_2$); 1690, 1715 (2 C=O, γ-Lactam und α,β-ungesättigter Ester); 1665 (Schulter an der Carbonylbande) und 958 (–HC–CH– *trans*); 988 (ev. –HC=CH– *trans*, konjugiert mit Ester) 1814, 1638 und 901 (R′R″C=CH_2); 1600, 1580, 1490, 760 und 690 (Benzolring monosubst.); 1370 ($-CH_3$); 1270 bis 1250 cm^{-1} (C–O Ester). UV.-Spektrum (Äthanol) Maxima bei: 193,5 (4,82); 213 (4,42); 219 (4,32); 258 (2,695); 264 (2,480); 267,5 (2,326) nm ($\log\varepsilon$); $\varepsilon_{210} = 28\,200$. NMR.-Spektrum vgl. Tab. und Fig. 2. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100° und 0,03 Torr getrocknet. Mol.-Gew. Gef. 440, 410 nach *Rast* (Campher)[15]), 479 massenspektroskopisch. Mikrohydrierungen (H_2-Aufnahme in Mol-Äquiv.): Mit PtO_2 in Eisessig: nach 15 Min. 3,7 H_2, nach 2 Std. 5,6 H_2, nach 4,5 Std. 6,1 H_2 (Ende); mit Pd-C in Äthanol nach 1 Min. 1,3 H_2, nach 20 Min. 1,5 H_2, nach 45 Min. 1,8 H_2, nach 5 Std. 2,2 H_2. Massenspektrum: u.a. Spitzen bei : (vgl. Fig. 3) *479* (M^+); 388 ($M-91$); 91 (Basissignal); 461 ($M-H_2O$); 370 ($M-91-H_2O$); 443 ($M-2\,H_2O$); 352 ($-2\,H_2O$); 425 ($M-3\,H_2O$); 334 ($M-91-3\,H_2O$).

$C_{29}H_{37}NO_5$	Ber.	C 72,62	H 7,78	O 16,68	N 2,92	2 (C)CH_3	6,3%
(479,6)	Gef.	,, 72,2	,, 7,8	,, 16,6	,, 3,41	,,	17,6%
		,, ,, 72,78	,, 7,70		,, 2,8 %		
		,, ,, 72,66	,, 7,92		,, 2,87 %		
	Ber.	3 akt.	,, 0,63%	Gef.	akt. H 0,48% (20°)		
				,,	,, ,, 0,54% (80°)		

Beilstein-Test und O-Methylbestimmung waren negativ.

4. Di-O-acetyl-phomin (2). – Eine Lösung von 100 mg Phomin (**1**) in 1 ml abs. Pyridin wurde mit 0,5 ml Acetanhydrid versetzt und bei 22° stehengelassen. Nach 40 Std. wurden das Pyridin sowie das überschüssige Acetanhydrid durch mehrmaliges Abdampfen mit Benzol im Vakuum entfernt. Der schwach gelbliche Rückstand wurde an 10 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(99:1) eluierten Fraktionen lieferten 127,5 mg farbloses, DC.-einheitliches (Chloroform-Methanol-(97:3)) amorphes **2**. $[\alpha]_D^{23} = +98° \pm 2°$ ($c = 0{,}979$ in Äthanol). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2 und KBr) u.a. Banden bei: 3410 (NH); 3090, 3060 und 3025 (=CH– und

[14]) In späteren Versuchen wurde die gesamte Kulturbrühe extrahiert, wodurch sich die Ausbeuten an Phomin (**1**) und 5-Dehydrophomin (**4**) stark erhöhten.

[15]) Diese Bestimmung wurde durch das Mikroanalyt. Laboratorium *Aug. Peisker-Ritter*, Brugg, ausgeführt.

$=CH_2$); 1735 (C=O, Acetyl); 1715 (breit, C=O, γ-Lactam und Ester); 1665 und 970 (–CH=CH–, *trans*); 988 (ev. –HC=CH– *trans*, konjugiert mit Ester); 1645 und 907 ($R'R''C=CH_2$); 1600, 1580, 1490, 760 und 700 (Benzolring monosubst.); 1375 und 1230 cm^{-1} ($-CH_3$ bzw. C–O, Ester). NMR.-Spektrum: vgl. Tab. und Fig. 9. Zur Analyse wurde 10 Std. bei 85°/0,03 Torr getrocknet.

$C_{33}H_{41}NO_7$ (563,7) Ber. C 70,31 H 7,33 N 2,49% Gef. C 69,88 H 7,49 N 2,47%

5. Di-O-(*p*-brombenzoyl)-phomin (3). – Eine Lösung von 50 mg Phomin (**1**) in 5 ml abs. Pyridin wurde mit 150 mg *p*-Brombenzoylchlorid versetzt. Nach 5 Tagen Stehen bei 45° wurde die Lösung auf Eis gegossen und nach 30 Min. mit Methylenchlorid extrahiert. Die organische Phase wurde mit 2N HCl, Wasser, 10-proz. $KHCO_3$-Lösung und nochmals mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Aus Methylenchlorid kristallisierten 33 mg farblose Kristalle, die nach Umkristallisieren aus Benzol 25 mg reines *p*-Brom-benzoesäureanhydrid[16]) in grossen Nadeln vom Smp. 220–222° lieferten, die nach Misch-Smp., IR.-Spektrum, DC. (Chloroform-Methanol-(98:2)) und Elementaranalyse mit authentischem Material identisch waren.

Das gewünschte *p*-Brombenzoat befand sich in der Mutterlauge des Anhydrids und wurde durch Chromatographie an 5 g Kieselgel von Spuren noch vorhandenen Anhydrids getrennt. Das Anhydrid wurde mit Methylenchlorid eluiert. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(995:5) eluierten Fraktionen enthielten 80 mg (90%) farbloses, amorphes, DC.-einheitliches (Chloroform-Methanol-(98:2)) Di-O-(*p*-Brombenzoyl)-phomin (**3**). $[\alpha]_D^{26} = +14° \pm 1°$ ($c = 1{,}557$ in Äthanol). IR.-Spektrum (KBr und CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 3410 (NH); 3085, 3060 und 3025 (=CH– und $=CH_2$); 1710–1720 (breit) und 1250–1265 (breit) (Ester und Lactam); 1675 (Schulter an der Carbonylbande) und 965 (–HC=CH– *trans*); 1645 und 910 ($=CH_2$); 1600 (Schulter), 1580, 1490, 1480, 1168, 1095, 1007, 840 (para-disubst.), 750 und 695 cm^{-1} (mono-subst. Benzolring). Zur Analyse wurde 15 Std. bei 80°/0,01 Torr getrocknet.

$C_{43}H_{43}Br_2NO_7$ (845,7) Ber. C 61,07 H 5,13 Br 18,9% Gef. C 61,18 H 5,15 Br 18,71%

6. 5-Dehydrophomin (4). – Eine Lösung von 155 mg Phomin (**1**) in 8 ml abs. Pyridin wurde mit 10 Tropfen CrO_3-Pyridin-Komplex [17] versetzt und bei 22° stehengelassen. Nach 12 Std. wurde die schwarzbraune Lösung mit der zweifachen Menge Wasser versetzt, mit verdünnter H_2SO_4 kongosauer gestellt und mit Methylenchlorid extrahiert. Der Extrakt wurde mit 2N H_2SO_4, 10-proz. $KHCO_3$-Lösung und NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der braune Rückstand wurde an 15 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(995:5) eluierten Fraktionen enthielten zusammen 44 mg rohes 5-Dehydrophomin, das nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methylenchlorid-Petroläther 37 mg reines 5-Dehydrophomin (**4**) in feinen farblosen Nadeln vom Smp. 185–187° lieferte. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(99:1) eluierten Fraktionen enthielten 93 mg Ausgangsmaterial. (Die Ausbeute konnte auch bei Erhöhung der Temperatur auf 40° und Verdoppelung der Reaktionsdauer nicht verbessert werden.) $[\alpha]_D^{25} = +92° \pm 2°$ ($c = 1{,}385$ in Äthanol). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2 und KBr) (vgl. Fig. 4) u.a. Banden bei: 3550 (OH); 3410, 3210 (NH); 3090, 3060 und 3025 (=CH– und $=CH_2$); 1715, 1705 (γ-Lactam und ungesättigtes Keton); 1690 (ungesättigter Ester); 1650 (Schulter) und 962 (–HC=CH–, *trans*); 1814, 1638 und 899 ($R'R''C=CH_2$); 1618 und 988 (ev. –HC=CH– *trans* konj.); 1600, 1580, 1490, 1450, 748 und 695 (Benzolring monosubst.); 1370 cm^{-1} ($-CH_3$). UV.-Spektrum (Äthanol) Maxima bei: 193 (4,8), 218 (4,25), 225 (4,098), 258 (3,193), 263 (3,015), 268 (2,90) nm ($\log\varepsilon$); $\varepsilon_{210} = 24400$. NMR.-Spektrum vgl. Tab. Mol.-Gew.: Gef. 487 (thermoelektrisch), 477 (massenspektroskopisch), Massenspektrum: u.a. Spitzen bei: *477* (M^+); 386 ($M-91$) (Basissignal); 91; 459 ($M-H_2O$); 368 ($M-91-H_2O$); 441 ($M-2H_2O$); 350 ($M-91-2H_2O$). Nach Misch-Smp., $[\alpha]_D$-Wert, DC. (Chloroform-Methanol-(97:3)), IR.- und NMR.-Spektrum ist das mit CrO_3-Pyridin-Komplex erhaltene Produkt identisch mit dem bei der Extraktion aus den Kulturansätzen isolierten Präparat.

Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100°/0,03 Torr getrocknet.

$C_{29}H_{35}NO_5$	Ber. C 72,95	H 7,39	N 2,92	O 16,75%
(477,6)	Gef. „ 73,3	„ 7,6	„ 3,4	„ 16,7 %
	„ 72,98	„ 7,28		„ 16,5 %

[16]) Die Bildung von *p*-Brombenzoesäureanhydrid als Nebenreaktion ist bekannt [36]. Sie beruht offenbar auf der Anwesenheit von Spuren H_2O (trotz Verwendung von «absoluten» Reagentien). Darauf beruht eine längst bekannte Methode der Anhydriddarstellung [37].

7. Mono-O-acetyl-dehydrophomin (5). – Eine Lösung von 50 mg Dehydrophomin (**4**) in 1 ml abs. Pyridin wurde mit 1 ml Acetanhydrid bei 22° stehengelassen. Nach 48 Std. wurden das Pyridin und das überschüssige Acetanhydrid nach Zugabe von Benzol mehrmals im Vakuum abgedampft und der gelbliche Rückstand an 10 g Kieselgel chromatographiert. Die Fraktionen, die mit Methylenchlorid-Methanol-(997,5:2,5) eluiert wurden, enthielten 52 mg farbloses, amorphes, DC.-einheitliches (Chloroform-Methanol-(97:3)) Mono-O-acetyl-dehydrophomin (**5**). $[\alpha]_D^{23} = +18° \pm 1°$ ($c = 1{,}476$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u.a. Banden bei: 3410 (NH); 3090, 3060, 3025 (=CH– und $=CH_2$); 1740–1700 (sehr breit, C=O); 1650 (Schulter) und 962 (–HC=CH–, *trans*); 1640 und 900 (RR'C=CH_2); 1620 und 988 (–HC=CH–, *trans* konj.); 1600, 1580, 1490 (Benzolring); 1370 cm^{-1} ($-CH_3$). NMR.-Spektrum: vgl. Tab. und Fig. 5. Zur Analyse wurde 15 Std. bei 80°/0,01 Torr getrocknet.

$C_{31}H_{37}NO_6$ (519,6) Ber. C 71,65 H 7,18% Gef. C 71,48 H 7,13%

8. Hexahydrophomin (6). – Eine Lösung von 100 mg Phomin (**1**) in 30 ml Äthanol wurde zusammen mit 30 mg Palladium auf Kohle (10%) bei einem H_2-Druck von 4,5 at und 50° während 24 Std. hydriert. Dann wurde über Hyflo-Supercel vom Katalysator abfiltriert und die alkoholische Lösung im Vakuum eingeengt. Durch Umkristallisieren aus Äther oder Benzol wurden 60 mg Hexahydrophomin (**6**) in farblosen Nadeln vom Smp. 193–196° erhalten. $[\alpha]_D^{23} = +5{,}6° \pm 1°$ ($c = 1{,}112$ in Äthanol). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2 und KBr) u.a. Banden bei 3420, 3210 und 3140 (NH); 3090, 3060 und 3025 (=CH–); 1708 (C=O, γ-Lactam); 1730 (C=O, Ester); 1600, 1580, 1490, 750 und 695 (Benzolring mono-subst.); 1370 cm^{-1} (CH_3). UV.-Spektrum (in Äthanol) Maxima bei: 193 (4,70); 206 (4,27); 218 (3,84); 242,5 (2,201); 248 (2,242); 254 (2,32); 258,5 (2,372); 264 (2,26); 268 (2,16) nm ($\log\varepsilon$); $\varepsilon_{210} = 15600$. Mol.-Gew.: Gef. 485 massenspektroskopisch. Massenspektrum: u.a. Spitzen bei: *485* (M^+); 394 ($M-91$); 426; 412; 318; 467 ($M-H_2O$); 376 ($M-91-H_2O$); 190; 120; 449 ($M-2H_2O$); 358 ($M-91-2H_2O$); 91 (Basissignal). – Nach dem Massenspektrum enthielt das Präparat noch Spuren von Tetrahydrophomin, das aber nicht abgetrennt werden konnte. Zur Analyse wurde 10 Std. bei 85°/0,03 Torr getrocknet.

$C_{29}H_{43}NO_5$ (485,7) Ber. C 71,72 H 8,93 N 2,88% Gef. C 71,84 H 8,91 N 2,61%

9. Di-O-acetyl-hexahydrophomin (7). – Eine Lösung von 80 mg Hexahydrophomin (**6**) in 1 ml abs. Pyridin wurde mit 1 ml Acetanhydrid bei 40° 15 Std. stehengelassen. Hierauf wurden das Pyridin und das überschüssige Acetanhydrid nach Zugabe von Benzol mehrmals im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde an 5 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid, das 0,5% Methanol enthielt, eluierten Fraktionen enthielten 95 mg farbloses, amorphes **7**, das noch etwas aus dem Ausgangsmaterial stammendes Tetrahydrophomin enthielt. $[\alpha]_D^{20} = +12° \pm 1°$ ($c = 0{,}869$ in Äthanol). IR.-Spektrum (KBr) u.a. Banden bei 3420 (NH); 3060, 3020 (=CH–); 3030-3010 (breit, C=O, Acetyl, Ester und γ-Lactam); 1600, 1580, 1490, 750, 695 (monosubst. Benzolring); 1365 (CH_3, Methyl und Acetyl); 1230 cm^{-1} (C–O, Acetyl).

10. Dodecahydrophomin (8). – 10.1. *Aus Phomin* (**1**): 500 mg Phomin wurden in 25 ml Eisessig gelöst und zusammen mit 60 mg $PtO_2 \cdot H_2O$ bei 20° und normalem Druck hydriert. Die H_2-Aufnahme war nach 30 Min. beendet. Es wurden 167 ml H_2 aufgenommen, was unter der Berücksichtigung, dass der Katalysator selbst 10,4 ml H_2 verbraucht, 6 Mol-Äquiv. H_2 entspricht. Es wurde vom Platin abfiltriert, der Eisessig im Vakuum abgedampft, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen, mit $KHCO_3$-Lösung und Wasser gewaschen, über $CaCl_2$ getrocknet und im Vakuum eingedampft. Umkristallisieren aus Chloroform-Petroläther lieferte 450 mg farblose Nadeln vom Smp. 185–188°.

10.2. *Aus Dehydrophomin* (**4**): Eine Lösung von 50 mg Dehydrophomin in 3 ml Eisessig wurde zusammen mit 10 mg $PtO_2 \cdot H_2O$ bei 22° hydriert. Die Hydrierung war nach einer Stunde beendet. Die H_2-Aufnahme betrug 21 ml, was unter Berücksichtigung der vom Katalysator aufgenommenen Wasserstoffmenge 7 Mol.-Äquiv. H_2 entspricht. Der Eisessig wurde im Vakuum abgedampft, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen, mit $KHCO_3$-Lösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Aus Chloroform-Petroläther resultierten 30 mg farblose Nadeln vom Smp. 184–187°. Nach Misch-Smp., DC. (Chloroform-Methanol-(96:4)), IR.-Spektrum und $[\alpha]_D$-Wert identisch mit dem bei 10.1. erhaltenen Präparat. $[\alpha]_D^{23} = +13° \pm 1°$ ($c = 0{,}948$ in Äthanol) (10.1.); $= +14° \pm 1°$ ($c = 1{,}142$ in Äthanol) (10.2.). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2 und KBr) u.a. Banden bei: 3610 (OH); 3420 (NH); 1725–1730 (C=O, Ester); 1705–1710 cm^{-1}

(C=O, γ-Lactam). UV.-Spektrum: keine selektive Absorption. NMR.-Spektrum ($(CD_3)_2SO$) Signale bei: 7,88 (*s*, NH), 2 sek. HO-Gruppen bei 4,28 bzw. 4,67 ppm. NMR.-Spektrum ($CDCl_3$) u.a. Signale bei: 0,85 (*d*, C-20) 3 sek. Methylgruppen; 1,07 (*d*, C-21) und 0,97 ppm (*d*, C-22). Massenspektrum: u.a. Spitzen bei: *491* (M^+); 394 ($M-97$); 223; 473 ($M-H_2O$); 376 ($M-97-H_2O$); 196 (Basissignal); 455 ($M-2H_2O$); 358 ($M-97-2H_2O$); 126. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100°/0,03 Torr getrocknet.

$C_{29}H_{49}NO_5$ (491,7) Ber. C 70,83 H 10,05 N 2,85% Gef. C 70,96 H 10,22 N 3,15%

11. Di-O-acetyl-dodecahydrophomin (9). – 11.1. *Aus Dodecahydrophomin* (**8**): Eine Lösung von 100 mg Dodecahydrophomin in 1 ml abs. Pyridin wurde mit 0,5 ml Acetanhydrid 40 Std. bei 22° stehengelassen. Dann wurden das Pyridin und das überschüssige Acetanhydrid nach Zugabe von Benzol mehrmals im Vakuum abgedampft und der Rückstand an 5 g Kieselgel chromatographiert. Die Fraktionen, die mit Methylenchlorid-Methanol-(99:1) eluiert wurden, enthielten 125 mg farbloses, amorphes **9**.

11.2. *Aus Di-O-acetyl-phomin* (**2**): Eine Lösung von 45 mg Di-O-acetyl-phomin in 3 ml Eisessig wurde mit 10 mg $PtO_2 \cdot H_2O$ hydriert. Nach 1 Std. war die Hydrierung beendet. Der H_2-Verbrauch betrug 14,5 ml, was einer Aufnahme von 6 Mol.-Äquiv. H_2 entspricht, wenn man berücksichtigt, dass der Katalysator selbst etwa 2,2 ml H_2 aufnahm. Es wurde vom Katalysator abfiltriert, der Eisessig im Vakuum abgedampft, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen, die Lösung mit $KHCO_3$-Lösung und Wasser neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft: 45 mg farbloses, amorphes **9**. Nach DC. (Chloroform-Methanol-(98:2)), IR.-Spektrum und $[\alpha]_D$-Wert identisch mit dem bei 11.1. erhaltenen Präparat. $[\alpha]_D^{25} = +0° \pm 1°$ ($c = 2{,}516$ in Äthanol). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2 und KBr) u.a. Banden bei: 3420, 3220 und 3120 (NH); 1735 breit (C=O, Acetat und ges. Ester); 1710 (C=O, γ-Lactam), 1370 und 1230 cm^{-1} (Methyl bzw. C–O, Acetat). NMR.-Spektrum ($CDCl_3$) u.a. Signale bei: 5,87 (*s*, NH), 4,99 (*m*, C-5), 4,70 (*dd*, C-14), 3,58 (*dt*, C-17), 0,86 (*d*, C-20), 0,99 (*d*, C-21), 0,96 (*d*, C-22) und zwei Acetylgruppen bei 2,04 bzw. 1,90 ppm. Zur Analyse wurde 10 Std. bei 85°/0,03 Torr getrocknet.

$C_{33}H_{53}NO_7$ (575,8) Ber. C 68,84 H 9,28 O 19,45% Gef. C 68,45 H 9,31 O 19,1%

12. Abbau von Di-O-acetyl-phomin (2) mit Ozon. – 12.1. *Ozonolyse*: In eine Lösung von 1,41 g Di-O-acetyl-phomin in 100 ml Methanol wurde während 21 Min. bei −70° bis −80° durch eine feine Düse O_3-haltiges O_2 geleitet[17]). Die noch kalte, farblose Lösung wurde sofort mit 2,5 g $NaBH_4$ versetzt und während 45 Min. gerührt, bis sie sich auf ca. 20° erwärmt hatte. Die Lösung färbte KJ-Stärke-Papier nicht mehr. $NaBH_4$ war nur teilweise in Lösung gegangen[18]). Die Lösung wurde bis zur kongosauren Reaktion mit 2N H_2SO_4 versetzt, wobei Na_2SO_4 ausfiel. Das Methanol wurde im Vakuum bei ca. 30° abgedampft, wobei das ausgefallene Na_2SO_4 wieder in Lösung ging. Die wässerige Lösung wurde hierauf im *Kutscher-Steudel*-Apparat mit Methylenchlorid während 68 Std. extrahiert. Nach Trocknen des Extraktes über Na_2SO_4 und Eindampfen wurden 1,39 g Rückstand erhalten, der im DC. (Chloroform-Methanol-(4:1)) nach Besprühen mit Phosphormolybdänsäure-Reagens oder in J_2-Dämpfen im wesentlichen drei Flecke zeigte.

12.2. *Nachweis von Formaldehyd* (**10**): Durch die methanolische Lösung des aus 369 mg Di-O-acetyl-phomin erhaltenen Ozonisierungsgemisches wurde nach katalytischer Hydrierung mit Pd-Kohle N_2-Gas geblasen (30 Min. bei 0°, dann 1 Std. bei 30°). Das austretende Gas wurde durch eine Waschflasche geleitet, in der 90 mg Dimedon und 1 Tropfen Piperidin in 20 ml Methanol vorgelegt waren. Die Lösung aus der Vorlage wurde 10 Min. unter Rückfluss erhitzt, mit 0,5N H_2SO_4 kongosauer gestellt und dann eingeengt. Aus Äthanol-Wasser kristallisierte Formaldimedon in Nadeln aus; nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äthanol Smp. 190–192°. Die Kristalle waren nach Misch-Smp., DC. und IR.-Spektrum mit authent. Formaldimedon identisch.

12.3. *Isolierung der weiteren Spaltprodukte*: Eine Lösung von 1,39 g der rohen Ozonolysierungsprodukte in 15 ml abs. Pyridin wurde mit 8 ml Acetanhydrid versetzt und bei 35° stehengelassen.

[17]) Der O_3-Gehalt betrug bei einer Strömungsgeschwindigkeit von 200 ml/Min. 4,4% O_3. Theoretisch wurde, bezogen auf drei zu spaltende Doppelbindungen, ein Überschuss von 10% O_3 durch die Lösung geleitet.

[18]) In einem früheren Versuch wurde die Spaltung des Ozonids durch katalytische Reduktion mit Pd-Kohle versucht. Dabei wurde Formaldehyd nachgewiesen (vgl. 12.2.). Die Isolierung und Charakterisierung der anderen Ozonolysenprodukte gelang jedoch nicht.

Nach 48 Std. wurde das Pyridin mehrmals mit Benzol im Vakuum abgedampft. Die verbliebene Lösung wurde auf Eis gegossen, nach 40 Min. in Methylenchlorid aufgenommen und mit 2N HCl, 10-proz. $KHCO_3$-Lösung und NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Eindampfen der organischen Phase ergab 1,70 g rohes Acetylierungsgemisch, das im IR.-Spektrum keine freien OH-Gruppen mehr zeigte. Im DC. (Chloroform-Methanol-(98:2)) waren vor allem zwei Hauptflecke neben 4 schwachen Flecken zu erkennen. Das Gemisch wurde an 120 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(995:5) eluierten Fraktionen ergaben 600 mg farbloses Öl von gebäckartigem Geruch. Das im Kugelrohr bei 120°/0,01 Torr destillierte Produkt zeigte im DC. (Chloroform-Methanol-(98:2) bzw. Äther) nur einen einzigen Fleck von *1,7,8-Triacetoxy-3-methyl-octan* (**11**). $[\alpha]_D^{23} = +2{,}3° \pm 1°$ ($c = 2{,}116$ in Chloroform). $n_D^{20} = 1{,}4411$. IR.-Spektrum (CS_2) u.a. Banden bei: 2960–2850, 1740 (C=O, Acetyl); 1360 mit Schulter bei 1370 (CH_3, Acetate und 4-Methylgruppe); 1240–1220 (C–O, Acetyl); 1040 cm^{-1}. NMR.-Spektrum ($CDCl_3$), Signale bei: 5,04 (*m*, 1H, C-2); 4,1 (*m*, 4H, C-1 und C-8); 2,06 (*s*, 6H, Acetyl an C-1 und C-8); 2,03 (*s*, 3H, Acetyl an C-2); 1,8–1,1 (9H, Gerüstprotonen); 0,91 ppm (*d*, 3H, CH_3 an C-4). Massenspektrumr u.a. Spitzen bei: 43 (Basissignal) 109, 122, 127, 187, 229, 243. Zur Analyse wurde das im Kugelroh, dest. Prod. verwendet.

$C_{15}H_{26}O_6$ (302,4) Ber. C 59,58 H 8,67% Gef. C 59,86 H 8,85%

Die mit Methylenchlorid-Methanol-(99:1) eluierten Fraktionen ergaben 990 mg farblosen Lack. Im DC. (Chloroform-Methanol-(97:3) bzw. Äther) zeigte sich nur ein einziger langgezogener Fleck. Nach Analyse und NMR.-Spektrum liegt ein Gemisch vor. Eine Lösung von 730 mg dieses Gemisches in 50 ml Methanol wurde mit 15 ml 1N K_2CO_3-Lösung gerührt. Nach 2 Std. waren im DC. anstelle des verschwundenen Ausgangsflecks drei neue Flecke erkennbar. Die Lösung wurde nun durch Eindampfen im Vakuum bei 25° vom Methanol befreit. Anschliessend wurde die wässerige Lösung 15mal mit je 50 ml Chloroform extrahiert und jeder Extrakt je 4mal mit je 20 ml Wasser gewaschen. Die vereinigten und über $MgSO_4$ getrockneten Chloroformextrakte ergaben beim Eindampfen 244 mg farbloses, amorphes Material, das im DC. (Chloroform-Methanol-(4:1)) im Wesentlichen nur noch die beiden schneller laufenden Flecke zeigte. Die Trennung erfolgte durch Chromatographie an 200 g Kieselgel.

Die mit Methylenchlorid-Methanol-(95:5) eluierten Fraktionen ergaben 140 mg DC.-einheitliche Nadeln. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Chloroform-Äther resultierte *γ-Lactam I* (*1-Benzyl-(3α,5)-dihydroxy-4-hydroxymethyl-6-methylen-7-methyl-3-oxo-octahydro-isoindol*) (**12**) in Nadeln vom Smp. 187–188,5°. $[\alpha]_D^{25} = +88° \pm 2°$ ($c = 1{,}032$ in Äthanol); $= +90° \pm 2°$ ($c = 1{,}078$ in Äthanol). IR.-Spektrum (KBr) u.a. Banden bei: 3400, 3300 (breit, NH u. OH-assoz.); 3080, 3060, 3020 (=CH– und $=CH_2$); 1996 (C=O, γ-Lactam); 1820, 1650, 907 ($=CH_2$); 1600, 1575, 1490, 860, 695 cm^{-1} (monosubst. Benzolring); 1370 cm^{-1} (CH_3). UV.-Spektrum (Äthanol) Maxima bei 208 (4,249); 217 (3,90), 242 (2,143), 248 (2,148), 253 (2,277), 259 (2,370); 264 (2,239); 268 (2,118) nm ($\log\varepsilon$); $\varepsilon_{210} = 16700$. NMR.-Spektrum: vgl. Tab. Molekulargewicht: Gef. 317 (massenspektroskopisch). Massenspektrum: u.a. Spitzen bei: 226 ($M-91$); 299 ($M-H_2O$); 208 ($M-91-H_2O$, Basissignal); 281 ($M-2H_2O$); 190 ($M-91-18-18$); 91 (Benzyl). Zur Analyse wurde 14 Std. bei 60°/0,02 Torr getrocknet.

$C_{18}H_{23}NO_4$	Ber.	C 68,11	H 7,30	N 4,42	O 20,17%
(317,4)	Gef.	,, 68,4	,, 7,25	,, 4,3	,, 19,9 %
		,, 67,67	,, 7,19		,, 20,0 %

Die mit Methylenchlorid-Methanol-(94:6) eluierten Fraktionen enthielten 40 mg Material, das nach längerer Zeit Kristalle vom Smp. 150–158° ergab. Die Substanz wurde nicht rein erhalten und deshalb nicht weiter untersucht.

Die nach der Extraktion mit Chloroform verbliebene wässerige Phase wurde mit Chloroform-Äthanol-(4:1) extrahiert. Die Extrakte wurden über $MgSO_4$ getrocknet und eingedampft: 265 mg farbloses, amorphes, im DC. fast einheitliches *γ-Lactam II* (*1-Benzyl-3α,5,6)-trihydroxy-4-hydroxymethyl-7-methyl-3-oxo-octahydro-isoindol*) (**14**), $[\alpha]_D^{23} = -15{,}4° \pm 1°$ ($c = 1{,}415$ in Äthanol). IR.-Spektrum (KBr) u.a. Banden bei: 3400 (sehr breit, NH u. OH-assoz.); 1685 (C=O, γ-Lactam); 1600, 1580, 1490, 755, 700 cm^{-1} (monosubst. Benzolring). Da die Substanz nicht absolut rein erhalten werden konnte, wurde auf eine Analyse verzichtet. Massenspektrum: u.a. Spitzen bei: 321 (M^+); 230 ($M-91$) (Basissignal); 212 ($M-91-18$); 194 ($M-91-18-18$); 190; 182; 91 (Benzyl).

13. Tri-O-acetyl-γ-lactam I (13). – Eine Lösung von 22 mg γ-Lactam I in 0,5 ml abs. Pyridin wurde mit 0,5 ml Acetanhydrid bei 22° stehengelassen. Nach 48 Std. wurden das Pyridin und das überschüssige Acetanhydrid nach Zugabe von Benzol mehrmals im Vakuum abgedampft und der leicht gelbliche Rückstand an 1 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(99:1) eluierten Fraktionen ergaben 30 mg farbloses, amorphes DC.-einheitliches **13** (Chloroform-Methanol-(97:3)). $[\alpha]_D^{23} = +49° \pm 2°$ ($c = 1{,}30$ in Äthanol). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2), u.a. Banden bei: 3410 (NH); 1740–1715 (breit, C=O, γ-Lactam u. Acetyl); 1810 (Schulter), 1645, 910 (=CH_2); 1600, 1580, 1490 (Benzolring); 1370, 1220 cm^{-1} (CH_3 bzw. C–O, Acetyl). NMR.-Spektrum: vgl. Tab. und Fig. 6.

14. Tetra-O-acetyl-γ-lactam II (15). – Eine Lösung von 45 mg γ-Lactam II in 0,5 ml abs. Pyridin wurde mit 0,5 ml Acetanhydrid bei 22° stehengelassen. Nach 24 Std. wurden das Pyridin und das überschüssige Acetanhydrid nach Zugabe von Benzol mehrmals im Vakuum abgedampft und der Rückstand an 10 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(995:5 bis 9:1) eluierten Fraktionen enthielten 55 mg farbloses **15**, das aus Chloroform-Petroläther als körniger, kristalliner Niederschlag ausfiel. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus demselben Lösungsmittel wurden 30 mg **15** vom Smp. 135–138° erhalten. $[\alpha]_D^{25} = -19° \pm 1°$ ($c = 1{,}561$ in Äthanol). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 3410 (NH); 1740–1715 (C=O, γ-Lactam u. Acetyl); 1600, 1580, 1490 (Benzolring); 1365, 1215 cm^{-1} (CH_3 bzw. C–O, Acetyl). NMR.-Spektrum: vgl. Tab. und Fig. 8. Massenspketrum: u.a. Spitzen bei: *489* (M^+); 398 ($M-91$); 429 ($M-60$); 338 ($M-91-60$); 356; 314; 296; 278; 218; 176 (Basissignal); 91 (Benzyl); 43 (Acetyl). Zur Analyse wurde 14 Std. bei 70°/0,01 Torr getrocknet.

$C_{25}H_{31}NO_9$ (489,5) Ber. C 61,34 H 6,38 O 29,42% Gef. C 61,54 H 6,57 O 29,2%

15. Reaktion von γ-Lactam I (12) mit Perjodsäure. – 10,6 mg **12** wurden in 2 ml 0,025 M HJO_4-Lösung gelöst und mit H_2O auf 5 ml aufgefüllt. Vom Reagens wurde eine Blindprobe gleicher Konzentration hergestellt. Nach 22 Std. wurden je 1 ml der Probe und der Blindprobe entnommen, mit 0,5 ml 1N KJ-Lösung, 0,25 ml 2N H_2SO_4 und etwas Stärke-Lösung versetzt und mit 0,01N $Na_2S_2O_3$-Lösung titriert: Es wurde kein Perjodat verbraucht (Probe bzw. Blindprobe verbrauchten 8,05 ml bzw. 8,00 ml $Na_2S_2O_3$-Lösung. Durch Extraktion mit Chloroform wurde **12** zurückerhalten.

16. Reaktion von γ-Lactam II (14) mit Perjodsäure. – Eine Lösung von 11 mg **14** in 4 ml Methanol wurde mit 3 ml 0,025 M HJO_4-Lösung versetzt und mit H_2O auf 20 ml aufgefüllt (die Lösung war leicht trübe). Es wurde analog eine Blindprobe hergestellt. Nach 45 Std. wurden je 5 ml der Probe und der Blindprobe mit 1 ml 1N KJ-Lösung, 0,5 ml 2N H_2SO_4 und etwas Stärke-Lösung versetzt und mit 0,01N $Na_2S_2O_3$-Lösung titriert. Der Verbrauch an Perjodat entsprach ungefähr einer Glykolgruppierung: 1 ml Probe bzw. Blindprobe verbrauchten 13,75 ml $Na_2S_2O_3$-Lösung bzw. 15,15 ml $Na_2S_2O_3$-Lösung (theoret. Verbrauch für die Probe: 13,3 ml). Das isolierte rohe Reaktionsprodukt gab mit einer Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in Äthanol eine positive Reaktion.

17. 3-Methyl-octan-1,7,8-triol (16). – Eine Lösung von 600 mg 1,7,8-Triacetoxy-3-methyl-octan (**11**) in 50 ml abs. Äther wurde mit 500 mg $LiAlH_4$ 1,5 Std. unter Rückfluss gekocht. Nachdem die Lösung mit 2N H_2SO_4 bis zur kongosauren Reaktion versetzt worden war, wurde die Ätherphase abgetrennt und die wässerige Phase im *Kutscher-Steudel*-Apparat 14 Std. mit Methylenchlorid extrahiert. Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen über $CaCl_2$ und Einengen wurden 369 mg *3-Methyl-octan-1,7,8-triol* (**16**) als farbloses, zähflüssiges Öl erhalten. Das Triol wurde direkt weiterverarbeitet.

18. 5-Methyl-heptanal-7-ol (17). – Eine Lösung von 49 mg 3-Methyl-octan-1,7,8-triol (**16**) in 6 ml Dioxan wurde mit 14 ml 0,025 M HJO_4-Lösung versetzt. Nach 22 Std. wurde 1 ml der Lösung mit 0,5 ml 1N KJ-Lösung, 0,25 ml 2N H_2SO_4 und etwas Stärke-Lösung versetzt und mit 0,01N $Na_2S_2O_3$-Lösung titriert. Der Verbrauch betrug 11,15 ml $Na_2S_2O_3$-Lösung gegenüber 13,25 ml bei einer unter gleichen Bedingungen angesetzten Blindprobe (theoretischer Verbrauch für das Triol: 10,50 ml $Na_2S_2O_3$-Lösung).

Die Lösung (inkl. der zur Titration verwendeten Probe) wurde nach 30 Std. 3mal mit je 60 ml Äther extrahiert und diese 2mal mit je 15 ml Wasser gewaschen. Die über Na_2SO_4 getrockneten Ätherextrakte ergaben beim Eindampfen 34 mg *5-Methyl-heptanal-7-ol* (**17**) als gelbliches, zäh-

flüssiges Öl von terpenartigem Geruch, das mit einer Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in Äthanol positiv reagierte. Im Gas-Chromatogramm[19]) zeigten sich zwei kleine Verunreinigungen von insgesamt ca. 5%, die nicht entfernt werden konnten. $[\alpha]_D^{24} = +2° \pm 1°$ ($c = 1{,}276$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 3630 (freie OH); 3470 cm^{-1} (sehr breit, OH-assoz.); 2740 (C–H, Aldehyd); 1720 (C=O, Aldehyd); 1380 cm^{-1} (CH_3). NMR.-Spektrum ($CDCl_3$) Signale bei: 9,75 (*t*, 1H, C-1); 3,67 (*t*, 2H, C-7); 2,43 (*t*, 2H, C-2); 1,77 (*s*, breit, O–H), wird bei +10° nach 2,97 ppm verschoben; 2,1–1,05 (7 Gerüstprotonen); 0,90 ppm (*d*, 3H, CH_3 an C-5). Zur Analyse wurde im Kugelrohr destilliert.

$C_8H_{16}O_2$ (144,2) Ber. C 66,63 H 11,18% Gef. C 66,15 H 11,03%

Die wässerige Phase der Perjodat-Spaltung (s. oben) und die Waschwasser wurden zum Nachweis des abgespaltenen Formaldehyds während 30 Min. mit Wasserdampf destilliert. Der austretende Dampf wurde in eine Vorlage geleitet, die eine Lösung von 70 mg Dimedon + 1 Tropfen Piperidin in 15 ml Äthanol enthielt. Nach 5 Min. Erhitzen unter Rückfluss wurde mit 0,5 N H_2SO_4 kongosauer gestellt. Beim Abkühlen schieden sich 30 mg Kristalle ab, die nach Umkristallisieren aus Äthanol Formaldimedon in Nadeln vom Smp. 190–192° ergaben. Nach Misch-Smp. und IR.-Spektrum identisch mit einem authent. Präparat.

19. (+)-3-Methylpimelinsäure (18) aus 5-Methyl-heptanal-7-ol (17). – Eine Lösung von 60 mg **17** in 10 ml über $KMnO_4$ destilliertem Aceton wurde bei 20° unter stetem Rühren tropfenweise mit 0,3 ml CrO_3-Lösung nach *Bowden et al.* [18] versetzt, bis durch die braune Farbe ein Überschuss an Oxydationsmittel angezeigt war. Es wurde noch 15 Min. weitergerührt, mit 10 ml H_2O versetzt und das Aceton im Vakuum abgedampft. Die wässerige Lösung wurde 3mal mit je 30 ml Äther extrahiert und dieser mit wenig 2 N H_2SO_4 und H_2O gewaschen. Der Äther wurde hierauf mit je 10 ml 10-proz. $KHCO_3$-Lösung zweimal ausgeschüttelt. Der $KHCO_3$-Auszug wurde mit 2 N HCl kongosauer gestellt und seinerseits 3mal mit je 50 ml Äther extrahiert. Letzterer wurde einmal mit H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und ergab nach Eindampfen 63 mg (+)-*3-Methylpimelinsäure* (**18**) als farbloses, zähflüssiges Öl, das bisher nicht kristallisierte. $[\alpha]_D^{25} = +7{,}9 \pm 1°$ ($c = 1{,}412$ in Äthanol). IR.-Spektrum (CCl_4) u.a. Banden bei: 2520 (freie OH); 3300–2500 (sehr breit, OH-assoz.); 1710 (C=O); 1380 cm^{-1} (CH_3). NMR.-Spektrum ($CDCl_3$) u.a. Signale bei: 10,90 (*s*, 2H, COOH); 2,35 (*m*, 4H, C-2 und C-6); 1,00 ppm (*d*, 3H, CH_3).

20. (+)-3-Methylpimelinsäure-dimethylester (19) aus der Säure 18. – Eine Lösung von 63 mg (+)-3-Methylpimelinsäure in 5 ml abs. Äther wurde mit einem Überschuss einer frisch bereiteten Lösung von Diazomethan in Äther versetzt. Nach 5 Min. wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand nochmals analog mit ätherischem Diazomethan behandelt. Es resultierten 67 mg farblose Flüssigkeit, die im Kugelrohr destilliert und anschliessend im Gas-Chromatograph untersucht wurde[20]). Das Destillat zeigte zwei kleine Verunreinigungen von zusammen ca. 5%, deren Entfernung nicht gelang. Es liegt somit fast reiner *(+)-3-Methylpimelinsäure-dimethylester* (**19**) vom Sdp. 239°/735 Torr bzw. 122°/11 Torr vor. Die Retentionszeiten des durch Abbau erhaltenen Esters und von authentischem Ester stimmten genau überein. $[\alpha]_D^{24} = +7{,}2° \pm 1°$ ($c = 2{,}508$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2), u.a. Banden bei: 1730 (C=O); 1360 cm^{-1} (CH_3). NMR.-Spektrum ($CDCl_3$) u.a. Signale bei: 3,67 (*s*, 6H, $-OCH_3$); 2,25 u. 2,27 (*d* + *t*, 2H + 2H, C-2 u. C-6); 2,1–1,1 (5 Gerüstprotonen); 0,95 ppm (*d*, 3H, $-CH_3$ an C-3). Zur Analyse wurde im Kugelrohr dest. Material verwendet.

$C_{10}H_{18}O_4$ (202,3) Ber. C 59,39 H 8,97% Gef. C 59,69 H 9,05%

21. (+)-3-Methylpimelinsäure-dianilid (20) aus der Säure 18. – Eine Lösung von 50 mg (+)-3-Methylpimelinsäure in 500 mg frisch über Zink destilliertem Anilin wurde 2 Std. auf 190–200° erhitzt. Hierauf wurde die braune Lösung mit Methylenchlorid-Methanol-(95:5) extrahiert und die organische Phase mit 2 N HCl, 2 N Na_2CO_3-Lösung und H_2O gewaschen und über

[19]) Die gas-chromatographischen Untersuchungen wurden mit einem «Hy-Fi» Gaschromatograph Modell A-600-B der Firma *Wilkens Instrument & Research, Inc.* durchgeführt, wobei eine 1,5 m lange Säule verwendet wurde, die mit Carbowax 20 m auf Chromosorb W (60/80 mesh) beschickt war. Bei einer Betriebstemperatur von 191° wurde mit N_2 (26 ml/Min.) gespült.

[20]) Es wurden zwei verschiedene Säulen benutzt: einerseits dieselbe wie in (**18**) bei einer Temp. von 175°, andererseits eine 1,5 m lange Säule mit 10% Neopentyl-glykolsuccinat/H_3PO_4 auf Firebrick (60/80 mesh) als Träger bei einer Temp. von 175° und 25 ml N_2/Min.

$MgSO_4$ getrocknet. Das nach Eindampfen erhaltene rohe Dianilid (40 mg) ergab nach zweimaligem Umkristallisieren aus Benzol und einmaligem Umkristallisieren aus wässerigem Äthanol 24 mg farblose Nadeln vom Smp. 161–162°. $[\alpha]_D^{25} = +15{,}4° \pm 1°$ ($c = 1{,}297$ in Äthanol). IR.-Spektrum ($CHCl_3$) u.a. Banden bei: 3440 und 3330 (NH frei bzw. assoz.); 1675 (C=O, Amid); 1600, 1515, 1490, 1440 cm^{-1} (Aromat).

22. Di-*p*-Bromphenacylester 21 der (+)-3-Methylpimelinsäure (18). – Eine Lösung von 32 mg (+)-3-Methylpimelinsäure in 1 ml H_2O wurde mit 4-proz. wässeriger NaOH versetzt bis zur schwach alkalischen Reaktion (Phenolphtalein). Darauf wurde mit wenigen Tropfen 1N HCl angesäuert (Lackmus), mit einer Lösung von 60 mg *p*-Bromphenacylbromid in 1 ml Äthanol versetzt und 2 Std. unter Rückfluss erhitzt. Die nach dem Erkalten ausgefallenen Kristalle wurden abfiltriert, mit Äthanol und H_2O gewaschen und aus wässerigem Äthanol umkristallisiert. Es resultierten 35 mg farblose, kubische Plättchen vom Smp. 109–111°, Misch-Smp. mit authent. Material ebenso. $[\alpha]_D^{24} = +7{,}3° \pm 1°$ ($c = 1{,}440$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u.a. Banden bei: 1743 (C=O, Ester); 1705 (C=O, Keton); 1587, 1570 (Aromat); 1400, 1370 (CH_3); 1072, 1012, 970 cm^{-1}.

23. (+)-3-Methylpimelinsäure (18) aus (+)-Pulegon. – 23.1. (+)-*3-Methylcyclohexanon* [**22a**]: Eine Lösung von 160 g frisch destilliertem (+)-Pulegon [Sdp. 96–97°/12 Torr, $n_D = 1{,}485$ $[\alpha]_D^{25} = +26{,}3° \pm 1°$ (Äthanol)] in 270 ml Äthanol wurde mit 95 ml 20-proz. H_2SO_4 unter Rückfluss gekocht. Nach 22 Std. wurde das Gemisch in 300 ml H_2O gegossen, die braune Ölschicht abgetrennt und die wässerige Phase dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Öl und Ätherextrakt wurden vereinigt, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Durch Vakuumdestillation wurden 46,8 g (40%) (+)-3-Methylcyclohexanon erhalten [Sdp. 50–51°/12 Torr, $n_D = 1{,}447$ $[\alpha]_D^{25} = +10{,}2° \pm 1°$ ($c = 0{,}783$ in Äthanol)].

23.2. 6-Äthoxycarbonyl-[(+)-3-Methylcyclohexanon] [22b]: Zu einer Lösung von 8 g Natrium in 130 ml abs. Äthanol wurde unter Kühlung (Eis/Kochsalz) und stetigem Rühren während einer Std. ein Gemisch von 36,5 g (+)-3-Methylcyclohexanon und 56,7 g Oxalsäure-diäthylester getropft. Nach weiterem Rühren während 4 Std. bei 0° und 12 Std. bei 22° wurde das Gemisch in 450 ml eisgekühlte, 10-proz. H_2SO_4 eingetragen. Die rotbraune Lösung wurde 3mal mit Äther extrahiert, die Ätherlösung über Na_2SO_4 getrocknet und der Äther über eine Kolonne abdestilliert. Der Rückstand wurde mit 12 g Glaspulver und 1 mg Eisenpulver als Katalysator zur Decarbonylierung auf 150° erhitzt. Nach Beendigung der CO-Entwicklung (ca. 1 Std.) wurde im Vakuum destilliert, wobei 24,3 g (40,5%) 6-Äthoxycarbonyl-[(+)-3-Methylcyclohexanon] erhalten wurden. Sdp. 114–115°/12 Torr, $n_D = 1{,}471$ $[\alpha]_D^{25} = +7{,}3° \pm 1°$ ($c = 1{,}033$ in Äthanol).

23.3. (+)-3-Methylpimelinsäure (**18**) [21]: Zu einer siedenden Lösung von 72 g Natrium in 500 ml Amylalkohol wurde unter Rühren im Verlauf einer halben Stunde ein Gemisch von 17,9 g 6-Äthoxycarbonyl-[(+)-3-Methylcyclohexanon] und 200 ml Amylalkohol getropft, anschliessend wurde 6 Std. unter Rückflusskochen weitergerührt. Nach Zugabe von weiteren 200 ml Amylalkohol wurde über Nacht stehengelassen, dann mit 1 l Wasser vermischt, die alkoholische Phase abgetrennt und zweimal mit H_2O gewaschen. Die vereinigten wässerigen Phasen wurden durch Ausäthern vom Amylalkohol befreit, dann mit konz. HCl kongosauer gestellt und mit Äther 4mal extrahiert. Die Ätherextrakte wurden über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Äthers über eine Kolonne wurden 11,3 g (66,6%) rohe (+)-3-Methylpimelinsäure (**18**) erhalten, die zweimal bei ca. 0,02 Torr destilliert wurde (Sdp. 147,5–149°/0,07 Torr bzw. 160°/0,2 Torr, $[\alpha]_D^{25} = +7{,}1° \pm 1°$ ($c = 0{,}947$ in Äthanol)]. Im Öl schieden sich wachsartige Kristalle vom Smp. 32–35° ab. In der Lit. [21] [22b] ist nur der Smp. des Racemats angegeben.

24. Reduktion von Phomin (1) mit $LiAlH_4$. – 24.1. *Reduktion mit 3 Äquivalenten $LiAlH_4$: γ-Lacton* **22**: Zu einer Lösung von 251 mg (0,52 mMol) Phomin in 20 ml frisch über Natrium destilliertem Tetrahydrofuran wurden unter stetem Umrühren und unter N_2 7,5 ml einer 0,1M Lösung von $LiAlH_4$ in Tetrahydrofuran getropft. Anschliessend wurde $1^1/_2$ Std. bei einer Temperatur von 40–50° weitergerührt, dann wurde die Lösung mit 2N H_2SO_4 kongosauer gestellt und 4mal mit je 50 ml Chloroform extrahiert. Die Chloroform-Extrakte wurden 2mal mit je 10 ml NaCl-Lösung gewaschen, über K_2CO_3 getrocknet und eingedampft. Der farblose Rückstand (250 mg) wurde an 40 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(99:1) eluierten Fraktionen enthielten 202 mg Ausgangsmaterial, während die mit Methylenchlorid-Methanol-(97:3) eluierten Fraktionen 43 mg Rohprodukt **22** lieferten, das nach zweimaligem Umkristallisieren aus Benzol

verfilzte Nadeln vom Smp. 192–194° ergab. **22** gibt mit Hydroxamsäure/$FeCl_3$-Sprühreagens [27] auf DC. eine positive Reaktion (Rosafärbung). $[\alpha]_D^{26} = +99° \pm 2°$ ($c = 1{,}135$ in Äthanol). IR.-Spektrum (KBr) u.a. Banden bei: 3550 (freie OH); 3300 (sehr breit, OH, NH-assoz.); 3080, 3020 (=CH–); 1764 (C=O, γ-Lacton); 1688 (C=O, γ-Lactam); 1638, 904 (=CH_2); 1600, 1575, 1490, 1450, 732, 697 (monosubst. Benzolring); 1374 (CH_3); 970 cm^{-1} (–HC=CH–, *trans*.). UV.-Spektrum (Äthanol) Maxima bei: 199 (4,25); 242 (2,29); 247 (2,27); 253 (2,32); 258 (2,38); 264 (2,27); 268 (2,15) nm ($\log\varepsilon$); $\varepsilon_{210} = 15540$. NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): vgl. Tab. Massenspektrum, u.a. Spitzen bei: *481* (M^+); 390 ($M-91$); 380; 463 ($M-H_2O$); 372 ($M-91-H_2O$); 362 ($380-H_2O$); 445 ($M-2H_2O$); 354 ($M-91-2H_2O$); 344 ($380-2H_2O$); 336 ($M-91-3H_2O$); 326 ($380-3H_2O$); 276; 190; 91 (Benzyl, Basissignal). Zur Analyse wurde 14 Std. bei 80° und 0,02 Torr getrocknet.

$C_{29}H_{39}NO_5$ (481,6) Ber. C 72,32 H 8,16 O 16,61% Gef. C 72,14 H 8,14 O 17,0%

24.2. *Mono-O-acetyl-γ-Lacton* (**23**): Eine Lösung von 32 mg **22** in 3 ml abs. Pyridin wurde mit 0,5 ml Acetanhydrid bei 22° stehengelassen. Nach 40 Std. wurden Pyridin und überschüssiges Acetanhydrid nach Zugabe von Benzol mehrmals am Vakuum abgedampft. Der Rückstand ergab aus Äther-Benzol 21 mg **23** in DC.-einheitlichen (Chloroform-Methanol-(97:3)), verfilzten Nadeln vom Smp. 194–196°; $[\alpha]_D^{25} = +38° \pm 1°$ ($c = 0{,}934$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2, KBr) u.a. Banden bei: 3530 (OH); 3410 (NH); 3080, 3060, 3020 (=CH–); 1770 (C–O, γ-Lacton); 1734 (C=O, Acetyl); 1690 (C=O, γ-Lactam); 1645 (Schulter), 904 (=CH_2); 1600, 1580, 1490, 1450, 732, 698 (monosubst. Benzolring); 973 (–HC=CH–, *trans*); 1370, 1230 cm^{-1} (CH_3 bzw. C–O, Acetyl). NMR.-Spektrum ($CDCl_3$) vgl. Tab. Zur Analyse wurde 14 Std. bei 80°/0,02 Torr getrocknet.

$C_{31}H_{41}NO_6$ (523,7) Ber. C 71,10 H 7,89 N 2,67% Gef. C 70,7 H 7,7 N 2,6%

24.3. *Reduktion mit 12 Äquivalenten $LiAlH_4$: Amin* **24**: Bei einem Ansatz, bei dem 250 mg Phomin (**1**) mit einem 12-molaren Überschuss $LiAlH_4$ 20 Std. in Tetrahydrofuran unter Rückfluss erhitzt wurden, konnten durch Ausschütteln mit 2N HCl 45 mg basische Anteile isoliert werden, aus denen durch Kristallisation aus Methylenchlorid 10 mg körnige Kristalle erhalten wurden. Sie zeigten mit Nitroprussidnatrium/Acetaldehyd-Reagens auf DC. (Chloroform-Methanol-(9:1)) eine positive Reaktion (blaue Färbung). Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methylenchlorid-Petroläther wurde das *Amin* **24** in Kristallen vom Smp. 136–138° erhalten. IR.-Spektrum (KBr) u.a. Banden bei: 3350 (breit, OH-assoz.); 3280 (NH); 3090, 3065, 3030 (=CH–); 1645, 920 (=CH_2); 1605, 1585, 1495, 1450, 753, 697 (monosubst. Benzolring); 1375 (CH_3); 970 cm^{-1} (–HC=CH–, *trans*). Für eine Analyse reichte die Substanz nicht aus. Das Massenspektrum bestätigt aber die vermutete Formel: $C_{29}H_{45}O_4N$ (471,6). Massenspektrum u.a. Spitzen bei: *471* (M^+); 380 ($M-91$) (Basissignal); 412; 394; 110; 362 ($M-91-H_2O$); 344 ($M-91-2H_2O$); 91 (Benzyl); 326 ($M-91-3H_2O$).

25. Reduktion von Di-O-acetyl-dodecahydrophomin (9) mit $LiAlH_4$: Tetrol 25. – Eine Lösung von 277 mg **9** in 25 ml abs. Äther wurde im Verlauf von 30 Min. unter Rühren zu einer eisgekühlten Lösung von 80 mg $LiAlH_4$ in 30 ml abs. Äther getropft. Darauf wurde 22 Std. unter Rückfluss mit gleichzeitigem Einleiten von N_2 gekocht. Das überschüssige $LiAlH_4$ wurde hierauf mit einigen Tropfen Essigester zerstört und das Lithium durch Zugabe von 2,5 ml 4-proz. NaOH gefällt. Nach weiteren 30 Min. Rühren wurde der Äther abdekantiert und der körnige Niederschlag 2mal mit je 50 ml abs. Äthanol ausgekocht. Die vereinigten Äther- und Alkoholextrakte ergaben beim Eindampfen 235 mg farbloses Rohprodukt, das an 20 g Kieselgel chromatographiert wurde. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(97:3 und 96:4) eluierten Fraktionen (je 5 Fr. à 100 ml) ergaben 65 mg uneinheitliches Material, das nicht weiter untersucht wurde. Die nächsten 5 Fraktionen, die mit Methylenchlorid-Methanol-(95:5) eluiert wurden, ergaben 120 mg amorphes **25**, das auf DC. (Chloroform-Methanol-(9:1)) einheitlich war. $[\alpha]_D^{26} = -16{,}2° \pm 1°$ ($c = 1{,}989$ in Äthanol). Das Massenspektrum spricht für die erwartete Formel $C_{29}H_{53}O_5N$ (495,8). Massenspektrum, u.a. Spitzen bei: *495* (M^+); 418; *223*; 222; 196 (Basissignal); 477 ($M-H_2O$); 459 ($M-2H_2O$); 400; 126.

Die folgenden mit Methylenchlorid-Methanol-(93:7 und 9:1) eluierten Fraktionen enthielten 47 mg uneinheitliches Material, das verworfen wurde.

26. Tetra-O-acetylderivat 26 des Tetrols 25. – Eine Lösung von 24 mg **25** in 0,5 ml abs. Pyridin wurde mit 0,5 ml Acetanhydrid bei 40° stehengelassen. Nach 24 Std. wurden Pyridin und überschüssiges Acetanhydrid nach Zugabe von Benzol mehrmals im Vakuum abgedampft und der gelbliche Rückstand an 5 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Methylenchlorid-Methanol-(98:2) eluierten Fraktionen ergaben 31 mg farbloses, amorphes *Tetra-O-acetylderivat* **26**. $[\alpha]_D^{23} =$

$-1{,}3° \pm 1°$ ($c = 1{,}401$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) u. a. Banden bei: 3440 (NH); 1725 (C=O, Acetyl); 1370, 1230 cm^{-1} (CH_3 bzw. C–O, Acetyl). NMR.-Spektrum ($CDCl_3$) u. a. Signale bei: 6,05 (*s*, N–H); ca. 4,9 (*m*, 2H, C-5 u. C-14); ca. 4,1 (*t*, 2H, C-2); 2,06 ppm (*s*, 12H 4 Acetylgruppen).

27. Partielle Racematspaltung von 5-Dehydrophomin (4). – 29,2 mg (*a*) 5-Dehydrophomin wurden mit 411,1 mg einer Lösung von 1,2225 g (±)-α-Phenylbuttersäureanhydrid in 9,8780 g abs. Pyridin (entspr. 50,87 mg (*b*) (±)-α-Phenylbuttersäureanhydrid) versetzt und bei 22° stehengelassen. Nach 16 Std. wurde die Lösung mit 3 ml Benzol, 2 ml H_2O und einem Tropfen Phenolphtaleinlösung versetzt und mit 0,1N NaOH titriert, wobei 2,75 ml Natronlauge (*n*) verbraucht wurden. Zur Lösung wurden sodann 10 ml Benzol gegeben und die wässerige Phase abgetrennt. Die wässerige Phase wurde mit 1,5 ml 2N HCl angesäuert und 4mal mit je 20 ml Chloroform extrahiert. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Einengen wurden 41,3 mg α-Phenylbuttersäure erhalten, deren Lösung in 2 ml Benzol im 1-dm-Rohr eine Drehung $\alpha_D = +0{,}066°$ zeigte.

Grad der Veresterung:

$$P \quad \frac{b \cdot M}{155 \cdot a} - \frac{n \cdot M}{10000 \cdot a} = \frac{50{,}87 \cdot 10^{-3} \cdot 477}{155 \cdot 29{,}2 \cdot 10^{-3}} - \frac{2{,}75 \cdot 477}{10^4 \cdot 29{,}2 \cdot 10^{-3}} = 5{,}36 - 4{,}49 = \mathbf{0{,}87}$$

oder 87%.

Optische Ausbeute:

$$\frac{\alpha}{\alpha' \cdot P} = \frac{0{,}066}{\frac{96{,}5 \cdot 164 \cdot 29{,}2 \cdot 10^{-3}}{477 \cdot 2} \cdot 0{,}87} = \frac{+0{,}066}{0{,}485 \cdot 0{,}87} = \mathbf{16\%(+)}$$

28. Partielle Racematspaltung von Phomin (1). – 40,7 mg (*a*) Phomin wurden mit 60,27 mg (b) (±)-α-Phenylbuttersäureanhydrid in 0,5 ml Pyridin bei 22° stehengelassen. Nach 16 Std. wurde die Lösung mit 3 ml Benzol, 2 ml H_2O und einem Tropfen Phenolphtalein-Lösung versetzt und mit 0,1N NaOH titriert. Der Verbrauch an Natronlauge betrug 2,95 ml (*n*). Darauf wurden 10 ml Benzol zugegeben und die wässerige Phase abgetrennt. Die wässerige Phase wurde mit 1,5 ml 2N HCl angesäuert und 4mal mit je 20 ml Chloroform extrahiert. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Einengen resultierten 47,8 mg α-Phenylbuttersäure, deren Lösung in 2 ml Benzol im 1-dm-Rohr eine Drehung $\alpha_D = +0{,}18°$ zeigte.

Grad der Veresterung:

$$P = \frac{b \cdot M}{155 \cdot a} - \frac{n \cdot M}{10000 \cdot a} = \frac{60{,}27 \cdot 10^{-3} \cdot 479}{155 \cdot 40{,}7 \cdot 10^{-3}} - \frac{2{,}95 \cdot 479}{10^4 \cdot 40{,}7 \cdot 10^{-3}} = 4{,}57 - 3{,}47 = \mathbf{1{,}1}$$

oder 110%

Optische Ausbeute:

$$\frac{\alpha}{\alpha' \cdot P} = \frac{0{,}18}{\frac{96{,}5 \cdot 164 \cdot 40{,}7 \cdot 10^{-3}}{479 \cdot 2} \cdot 1{,}1} = \frac{0{,}18}{0{,}672 \cdot 1{,}1} = \mathbf{24\%\ (+)}$$

LITERATURVERZEICHNIS

[1] *E. M. Fries*, «Elenchus Fungorum sistens Commentarium in Systema Mycologicum», Vol. II, p. 119; *F. E. Clements & C. L. Shear*, «The Genera of Fungi», p. 177, Hafner Publishing Co., New York 1957.

[2] *F. Koegl & J. Sparenburg*, Rec. Trav. chim. Pays-Bas *59*, 1180 (1940); *F. Koegl & F. W. Quakkenbush, ibid. 63*, 251 (1944); *F. Koegl, G. C. Wessem & O. I. Elsbach, ibid. 64*, 23 (1945).

[3] *A. J. Birch, D. N. Butler & R. W. Rickards*, Tetrahedron Letters *1964*, 1853.

[4] *D. E. Wright & K. Schofield*, Nature *188*, 233 (1960).

[5] *H. Raistrick, R. Robinson & A. R. Todd*, Biochem. J. *27*, 1170 (1933); *W. K. Anslow & H. Raistrick, ibid. 34*, 1546 (1940).

[6] *A. Closse, R. Mauli & H. P. Sigg*, Helv. *49*, 204 (1966).

[7] *W. Rothweiler & Ch. Tamm*, Experientia *22*, 750 (1966).

[8] *D. C. Aldridge, J. J. Armstrong, R. N. Speake & W. B. Turner*, Chem. Commun. *1967*, 26; J. chem. Soc. [C] *1967*, 1667.

[9] *S. Hayakawa, T. Matsushima, T. Kimura, H. Minato & K. Katagiri,* J. Antibiotics (Jap.) *21,* 523 (1968); *Y. Tsukuda, M. Matsumoto, J. Minato & K. Koyama,* Chem. Commun. *1969,* 41; *H. Minato & M. Matsumoto,* J. chem. Soc. [C] *1970,* 38.
[10] *D. C. Aldridge & W. B. Turner,* Chem. Commun. *1969,* 923.
[11] *D. C. Aldridge & W. B. Turner,* J. Antibiotics (Jap.) *22,* 170 (1969).
[12] *H. Minato & T. Katayama,* J. chem. Soc. [C] *1970,* 45.
[13] *W. Simon & W. Tomlinson,* Chimia *14,* 305 (1960); *W. Simon,* Internat. Sympos. on Microchem. Techniques, Aug. 13–18, 1961, The Pennsylvania State University.
[14] Vgl. *O. L. Chapman & R. W. King,* J. Amer. chem. Soc. *86,* 1256 (1964); *J. G. Traynham & G. A. Knesel, ibid. 87,* 4220 (1965).
[15] Vgl. *R. Mecke jr. & R. Mecke sen.,* Chem. Ber. *89,* 343 (1956); *N. B. Colthup, L. H. Daly & S. E. Wiberly,* «Introduction to IR. and Raman Spectroscopy», p. 264, 356, Academic Press, New York & London 1964.
[16] Vgl. *Koji Nakanishi,* «IR. Absorption Spectroscopy», p. 24, Holden-Day Inc., San Francisco 1962.
[17] *G. I. Poos, G. E. Arth, R. E. Beyler & L. H. Sarett,* J. Amer. chem. Soc. *75,* 425 (1953).
[18] *K. Bowden, I. M. Heilbron, E. H. R. Jones & B. C. L. Weedon,* J. chem. Soc. *1946,* 39.
[19] *R. B. Woodward,* Angew. Chem. *69,* 50 (1957).
[20] Vgl. *L. M. Jackman,* «Applications of NMR. Spectroscopy in Organic Chemistry», p. 55, Pergamon Press, 2nd Ed., London 1962.
[21] *M. Mousseron & J. Jullien,* Bull. Soc. chim. France *1947,* 605.
[22] a) *J. L. Simonson & L. N. Owen,* «The Terpenes», 2nd Ed., Vol. I, pg. 371, Cambridge University Press, Cambridge 1953; *F. Nerdel, B. Gnauck & G. Kresze,* Liebigs Ann. Chem. *580,* 35 (1953); vgl. *H. Rupe, ibid. 459,* 206 (1927), *436,* 202 (1924); *O. Wallach, ibid. 289,* 339 (1896); – b) *A. Kötz & L. Hesse,* Liebigs Ann. Chem. *342,* 315 (1905), vgl. *H. D. Gardner, W. H. Perkin & H. W. Watson,* J. chem. Soc. *97,* 1767 (1910); *R. D. Haworth, J. D. Hobson, ibid. 1951,* 567; *E. Black, G. L. Buchanan & A. W. Jarvie, ibid. 1956,* 2972.
[23] Vgl. *A. J. Birch,* Rep. Progr. Chemistry *47,* 190 (1950); *A. Fredga & E. Leskinen,* Arkiv Kemi Mineralog. Geol. *19* B, No. 1 (1944); *J. v. Braun & F. Jostes,* Ber. deutsch. chem. Ges. *59,* 1444 (1926); *K. Freudenberg & W. Lwowski,* Liebigs Ann. Chem. *587,* 213 (1954).
[24] *H. S. Gutowsky & A. Saika,* J. chem. Physics *21,* 1688 (1953).
[25] *M. Barfield,* J. chem. Physics *41,* 3825 (1964).
[26] *K. Biemann,* «Mass Spectrometry», p. 84, 87, McGraw-Hill Book Co., New York 1962.
[27] *M. Abdel-Akher & F. Smith,* J. Amer. chem. Soc. *73,* 5859 (1951).
[28] *A. Dornow & W. Bartsch,* Chem. Ber. *87,* 633 (1954); *K. Herrmann,* Pharmazie *8,* 303 (1953).
[29] *L. & M. Fieser,* «Organische Chemie», p. 272, Verlag Chemie GmbH, Weinheim 1965.
[30] *M. Karplus,* J. chem. Physics *30,* 11 (1959); *H. Conroy,* Adv. org. Chemistry *2,* 311 (1960); *M. Karplus,* J. Amer. chem. Soc. *85,* 2870 (1963); vgl. *S. Sternhell,* Quart. Reviews *23,* 236 (1969).
[31] *G. A. Sim, Ch. Tamm et al.,* unpublizierte Versuche.
[32] *A. Horeau,* Tetrahedron Letters *1961,* 506; *1962,* 965; Bull. Soc. chim. France *1964,* 2673; J. Amer. chem. Soc. *86,* 3171 (1964); *A. Horeau & B. Kagan,* Tetrahedron *20,* 2431 (1964).
[33] Vgl. *T. Reichstein & C. W. Shoppee,* Discuss. Farad. Soc. *7,* 305 (1949).
[34] *G. R. Duncan,* J. Chromatogr. *8,* 37 (1962).
[35] Vgl. *E. Stahl,* «Dünnschichtchromatographie», 2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1967.
[36] *F. M. Robertson & A. C. Neish,* Canad. J. Res. *26B,* 737 (1948).
[37] *E. Wedekind,* Ber. deutsch. chem. Ges. *34,* 2070 (1901).

Curriculum vitae

Am 19. April 1939 wurde ich, Werner Bernhard Rothweiler, Bürger von Basel, als Sohn des Emil Rothweiler, Beamter der Basler Verkehrsbetriebe, und der Louise, geb. Buser, in Basel geboren.

Hier besuchte ich von 1947–1951 die Primarschule und trat anschliessend in das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium ein. Von 1956–1957 verbrachte ich ein Jahr im Schüleraustausch des «American Field Service» in Kalifornien, wo ich eine amerikanische Mittelschule besuchte. Nach der Rückkehr bestand ich im Jahre 1959 die Matur am mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasium.

Im Sommersemester 1959 immatrikulierte ich mich an der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel und begann mein Chemie-Studium. Nach den beiden Vordiplomprüfungen (Frühling 1960 und Herbst 1962; Nebenfächer: Mineralogie und Zoologie) erwarb ich im Herbst 1963 das Chemiker-Diplom.

Im Wintersemester 1963/64 begann ich meine Doktorarbeit unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Ch. Tamm. Dem «Stipendienfonds zur Unterstützung von Doktoranden auf dem Gebiete der Chemie» danke ich für die Gewährung eines Stipendiums.

Während meiner Studienzeit habe ich insgesamt ca. 600 Tage Militärdienst geleistet.

Meine Ausbildung verdanke ich folgenden Herren Professoren und Dozenten: E. Baumgartner, P. Bearth, M. Brenner, P. Buchner, H. Dahn, P. Diehl, H. Erlenmeyer, A. Ernst, S. Fallab, C. Grob, F. Grün, P. Huber, W. Kuhn, H. Labhart, R. Laur, A. Marxer, E. Miescher, H. Nüesch, A. Portmann, B. Prijs, T. Reichstein, P. Schiess, H. Seiler, Ch. Tamm, M. Thürkauf, E. Wenk und R. Wizinger.